

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta
Katedra analytické chemie

Diplomová práce

Impedanční detekce v průtokových analytických metodách

Impedimetric Detection in Flow-through Analytical Methods

Předmětové heslo: analytická chemie

Klíčová slova: impedanční detekce, bezkontaktní vodivostní detektor, tenkovrstvý detektor, detekce v roztoku, detekce v proudu kapalin

Vypracoval: Jiří Míka
Školitel: Prof. RNDr. František Opekar, CSc.

Praha 2009

Tato diplomová práce byla vypracována na katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty University Karlovy v Praze v roce 2009.

Prohlašuji, že jsem pod vedením školitele Prof. RNDr. Františka Opekara, CSc. pracoval samostatně a veškerou použitou literaturu jsem citoval. Jsem si vědom toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne

Tímto bych chtěl srdečně poděkovat mému školiteli Prof. RNDr. Františku Opekarovi, CSc. za odborné vedení, podnětné připomínky a všestrannou pomoc během realizace této práce.

Veliké díky také patří mé rodině a mým přátelům, kteří mi vytvářeli skvělé zázemí k studiu.

Práce byla finančně podporována MŠMT ČR, výzkumný projekt MSM 0021620857, a Grantovou agenturou České republiky, grant č. 203/07/0896.

Obsah

1 Úvod

2 Princip měření vodivosti

- 2.1 Konstrukční uspořádání vodivostních nádobek
 - 2.1.1 Kontaktní vodivostní detekce
 - 2.1.2 Bezkontaktní vodivostní detekce
- 2.2 Hlavní typy bezkontaktních vodivostních detektorů
 - 2.2.1 Bezkontaktní čtyřelektrodový vodivostní detektor
 - 2.2.2 Bezkontaktní vodivostní detektor s tubulárními elektrodami
 - 2.2.3 Bezkontaktní vodivostní detektor se semitubulárními elektrodami
 - 2.2.4 Bezkontaktní vodivostní detektor s planárními elektrodami pro mikročipovou elektroforézu
 - 2.2.5 Bezkontaktní vodivostní detektor s drátkovými elektrodami
- 2.3 Využití bezkontaktních vodivostních detektorů pro praktické analýzy

3 Experimentální část

- 3.1 Popis bezkontaktního tenkovrstvého vodivostního detektoru
- 3.2 Měřicí aparatura
- 3.3 Používané chemikálie

4 Výsledky a diskuze

- 4.1 Tenkovrstvý vodivostní detektor, typ I
 - 4.1.1 Závislost odezvy přístroje na frekvenci procházejícího proudu
 - 4.1.2 Kalibrace detektoru roztoky KCl
 - 4.1.3 Vliv použité mobilní fáze na odezvu přístroje
- 4.2 Tenkovrstvý vodivostní detektor, typ II
 - 4.2.1 Závislost odezvy přístroje na frekvenci procházejícího proudu
 - 4.2.2 Kalibrace detektoru roztoky KCl
 - 4.2.3 Vliv použité mobilní fáze na odezvu přístroje

4.2.4 Použití detektoru v HPLC

4.3 Matematická modelace vlastností detektoru typu II

5 Závěr

6 Citovaná literatura

1 Úvod

Impedanční detekce jsou ve svém principu velmi univerzální metody. Je obecně známo, že tyto metody jsou vhodné pro detekci malých anorganických iontů. To je dáno především tím, že tyto ionty vykazují nejvyšší měrnou vodivost a tím nejvíce ovlivňují analytický signál impedančních detektorů. U této skupiny látek je navíc častým jevem velmi malá schopnost absorbovat záření z UV oblasti spektra. Tím je využití jinak velmi oblíbených spektrofotometrických metod velmi omezeno a vodivostní detektory se tak stávají nejlepší možnou volbou. Tímto však použitelnost vodivostních detektorů nekončí. Bylo dokázáno^{1,2,3,26}, že tyto detektory jsou vhodné i pro detekci nabitých organických látek, které se v elektrickém poli pohybují mnohonásobně pomaleji než jednoduché anorganické ionty.

Jednou z hlavních výhod vodivostních detektorů je zpracování výsledného signálu. U většiny detekčních metod je primární analytická informace ve formě fyzikálního parametru (např. intenzita světla, změna teploty, změna tlaku, atd.), která se musí dále převádět na elektrický signál. Tyto úpravy přirozeně zvyšují velikost výsledného šumu detektoru. U vodivostní detekce, podobně jako u většiny elektrochemických detekčních metod, tento převod odpadá. Další velice významná výhoda vodivostní detekce spočívá v poměrně nenáročné instrumentaci a velmi malých rozměrech používaných přístrojů. Tento rozdíl je velmi patrný při porovnání např. s optickými metodami, kde přístroje obsahují monochromátory a jiné optické systémy, které celé zařízení nejen činí složitějším, ale i prodražují a znesnadňují jeho miniaturizaci.

Impedanční metody detekce využívají ke stanovení analytu měření elektrické vodivosti analyzovaného roztoku. Pro stanovení se tudíž neuvádí elektrodové reakce

analytu a impedanční metody detekce tak patří mezi elektrometrické metody. Na elektrické vodivosti roztoku se podílejí všechny látky v analyzovaném roztoku obsažené, přičemž jednotlivé příspěvky látek nelze rozlišit. Z tohoto důvodu patří impedanční detekce mezi neselektivní analytické metody a jsou schopny podat pouze informace o celkovém obsahu látek.

Elektrická vodivost je veličina, která vyjadřuje schopnost látky či roztoku vést elektrický proud. Na elektrické vodivosti se podílí dvě složky - pohyb iontů a polarizace molekul nebo orientace dipólů. K pohybu iontů dochází působením elektrického pole na částice nesoucí trvalý elektrický náboj. Částice nesoucí trvalý náboj mohou mít tento náboj kladný či záporný. Kladně nabitě částice jsou kationty, kationty se pohybují směrem ke katodě. Záporně nabitě částice jsou anionty, tyto částice se pohybují směrem k anodě. K druhému příspěvku k celkové vodivosti dochází působením vnějšího elektrického pole na některé elektroneutrální molekuly, u nichž dochází k významnému přesouvání náboje uvnitř molekuly, k polarizaci. Tím molekula vytváří indukovaný elektrický dipól, orientovaný ve směru pole. Řada nesymetrických molekul vykazuje i bez působení vnějšího pole trvalý elektrický dipól; v nepřítomnosti elektrického pole jsou trvalé dipóly těchto látek v roztoku orientovány náhodně, teprve působením pole se orientují. Na rozdíl od pohybu iontů, k pohybu náboje v těchto případech dochází pouze při vzniku či zániku polarizačního jevu, tj. při vzniku nebo zániku elektrického pole nebo při změně jeho směru. Doba vzniku či zániku polarizačního jevu je řádu μs , elektrické pole by se proto mělo měnit řádově stejně rychle. Schopnost roztoku vytvářet a orientovat dipóly je charakterizována permitivitou.

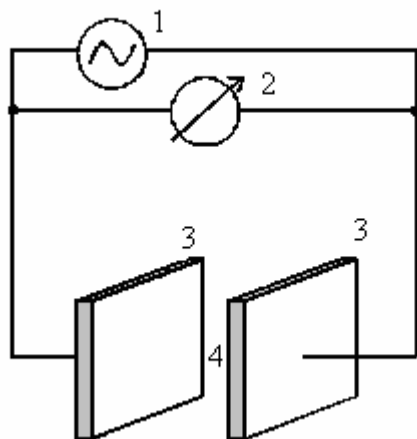
Z uvedeného vyplývá, že změna složení roztoku může být detekována buď změnou vodivosti nebo permitivity. V současné době jsou nejběžnější taková měřicí uspořádání, v nichž je detekována především změna vodivosti roztoku a analytickým signálem je odpovídající změna elektrického proudu. Variant, jak měřit změny vodivosti roztoku je nepřeberné množství, lišící se jak geometrickým uspořádáním vodivostních cel, tak i používanými materiály. Pro detekci v toku kapaliny se využívají často cely tubulární, typu wall-jet a cely tenkovrstvé, thin-layer. Z konstrukčního hlediska se jako velmi moderní a perspektivní jeví metody založené právě na principu thin-layer. Takto vyrobené detektory mají velmi malé rozměry a malé vnitřní objemy, což je zvyhodňuje tam, kde je nutno detegovat úzké zóny látek či tam, kde je nedostatek

analytu řídicím kritériem výběru detektoru. Tato výhoda se však může stát i limitujícím hlediskem pro použití těchto detektorů např. v průtokových analytických metodách, kde detekčním členem prochází velké množství kapaliny v krátkém časovém úseku, navíc pod značným tlakem.

Cílem této práce bylo vyrobit bezkontaktní impedanční detektor typu thin-layer, což je v problematice bezkontaktních impedančních detektorů zcela nové geometrické uspořádání. Takto sestavený detektor následně otestovat v modelovém průtokovém systému, nalézt optimální podmínky pro jeho používání a zjistit jeho základní parametry. Takto vyzkoušený detektor později zapojit do systému pro kapalinovou chromatografii a tak ověřit jeho použitelnost v reálných systémech v porovnání s jinými druhy detekce.

2 Princip měření vodivosti

Princip zapojení pro vodivostní měření ukazuje obr. 2.1. Analyzovaný roztok je ve vodivostní nádobce mezi dvěma vodivostními elektrodami, mezi kterými protéká střídavý elektrický proud. Střídavý proud je nutné použít z toho důvodu, aby se zabránilo polarizaci elektrod, což by vodivostní měření rušilo.



Obr. 2.1. Vodivostní měření. 1- zdroj střídavého proudu, 2- voltmetr, 3- vodivostní elektroda, 4- měřený roztok

Průchod střídavého proudu, I , nádobkou ovlivňuje impedance, Z [Ω]. Impedance

je rovna vektorovému součtu ohmického odporu nádoby, R , a kapacitní reaktance, X_C , (uvažována je pouze kapacitní komponenta impedance, indukance se zpravidla uplatňuje málo). Napětí, U , měřené na voltmetru v obvodu, je se zjišťovanou impedancí v poměru daném Ohmovým zákonem

$$U = I \cdot Z. \quad (2.1)$$

Během měření se střídavý proud udržuje konstantní, potom je měřené napětí přímo úměrné impedanci vodivostní nádoby s analyzovaným roztokem

$$Z = \sqrt{R^2 + X_C^2}. \quad (2.2)$$

Reaktance, X_C , představuje příspěvek kapacity nádoby, reaktance je složka impedance závislá na frekvenci

$$X_C = \frac{\pi \cdot f \cdot C}{2}, \quad (2.3)$$

kde f [Hz] je frekvence střídavého proudu a C [F] je kapacita měrné nádoby.

Ohmický odpor, R , je na frekvenci střídavého proudu nezávislá složka impedance

$$R = \frac{\rho \cdot l}{A}, \quad (2.4)$$

kde ρ [$\Omega \cdot \text{cm}$] je měrný odpor roztoku, l [cm] je vzdálenost elektrod a A [cm^2] plocha elektrod.

Ohmický odpor je možné nahradit vodivostí, což je vlastně převrácená hodnota odporu

$$G = \frac{1}{R} = \frac{\kappa \cdot A}{l}, \quad (2.5)$$

kde κ [$\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$] je měrná vodivost.

Měrná vodivost, κ , charakterizuje analyzovaný roztok, zatímco podíl A/l charakterizuje experimentální zařízení vodivostní nádoby,

$$\kappa = G \cdot \Theta, \quad (2.6)$$

kde Θ [cm^{-1}] je konstanta vodivostní nádoby.

Hodnota Θ musí být známá, pokud je zapotřebí ze změřené vodivosti G určit měrnou vodivost roztoku, během měření by se neměla hodnota Θ měnit.

Příspěvek jednotlivých iontů (nosičů náboje) k celkové měrné vodivosti roztoku je dán rovnicí

$$\kappa = \sum c_i \cdot \lambda_i \cdot z_i, \quad (2.7)$$

kde c_i [$\text{mol} \cdot \text{cm}^{-3}$] je koncentrace i -té složky, λ_i [$\text{S} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$] je iontová vodivost a z_i je náboj iontu.

Pakliže je v roztoku jediný elektrolyt o dané koncentraci c , pak podíl měrné vodivosti tohoto roztoku a koncentrace je molární vodivost Λ [$\text{S} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$],

$$\Lambda = \frac{\kappa}{c}. \quad (2.8)$$

Tato veličina by měla charakterizovat schopnost roztoku příslušného elektrolytu vést elektrický proud bez ohledu na jeho koncentraci, toto však neplatí. Molární vodivost je na koncentraci závislá. V roztocích silných elektrolytů tuto závislost způsobují vzájemné interakce mezi nabitými částicemi a mezi nabitými částicemi a molekulami rozpouštědla a v roztocích slabých elektrolytů je to způsobeno malou disociací molekul elektrolytu. Teprve při tzv. nekonečném zředění, kdy jsou vzdálenosti mezi ionty tak velké, že se vzájemně neovlivňují, a slabé elektrolyty jsou zcela disociované, přestává hodnota Λ na koncentraci záviset. Při tomto stavu se Λ označuje za mezní molární vodivost, Λ^0 , přičemž je rovna součtu iontových vodivostí, λ_i^0 , jednotlivých iontů v roztoku při nekonečném zředění

$$A^0 = \sum \lambda_i^0. \quad (2.9)$$

2.1 Konstrukční uspořádání vodivostních nádobek

Z hlediska konstrukčního zapojení je možné rozdělit konduktometrickou detekci na dva hlavní proudy, které se od sebe liší především principem, na kterém je měření založeno, a použitím některých rozdílných součástí. Zapojení, které je ve vodivostní detekci známo nejdelší dobu, je kontaktní^{4,5} zapojení. Tento typ měření vodivosti má mnoho výhod, poměrně dobrou citlivost, dobrou reprodukovatelnost a technickou nenáročnost zařízení. Při tomto uspořádání jsou měřicí elektrody v přímém styku s měřeným roztokem, to přináší několik problémů. Tím největším je časová nestálost vlastností elektrod (dochází k adsorpci látek na povrchu elektrod, rozpouštění materiálu elektrod či nechtěné polarizaci). Druhou možností je bezkontaktní zapojení. Při tomto řešení vodivostního měření se podařilo odstranit některé nepříjemné vlastnosti předchozího kontaktního zapojení. Vodivostní elektrody už nejsou v přímém kontaktu s analyzovaným roztokem, tudíž nedochází k jejich polarizaci, a ani se nemohou pasivovat tvorbou filmů či adsorpcí některých složek roztoku. Výhodou je určitě také jednodušší konstrukce celé aparatury. Avšak bezkontaktní vodivostní detekce (CCD, Contactless Conductivity Detection) trpí jednou nevýhodou, a tou je komplexní povaha měřeného signálu. To se projevuje nelinearitami koncentračních závislostí⁶ a nutností při měření používat vyšších frekvencí budícího signálu v porovnání s kontaktní detekcí.

2.1.1 Kontaktní vodivostní detekce

Kontaktní způsob detekce je dnes mnohem rozšířenější než bezkontaktní. To je dáno jejím dřívějším objevem a širším polem použitelnosti nežli u bezkontaktní detekce. Dnes existuje velká spousta známých firem zabývajících se výrobou kontaktních konduktometrů, mezi mnoha jmenuji jen pár zástupců, ChromSpec spol. s.r.o., Merci s.r.o. či anglický JENWAY. Kontaktní konduktometry se používají v mnoha aplikacích, např. při sledování čistoty vody na výstupu zařízení pro přípravu destilované, deionizované či superčisté vody, sledování složení technologických roztoků, při kontrole prostředí v akváriích a při mnoha analytických stanoveních.

Kontaktní konduktometrické stanovení se například stalo hlavní metodou pro stanovení fluoridů dle ČSN ISO 10359-1 ⁷.

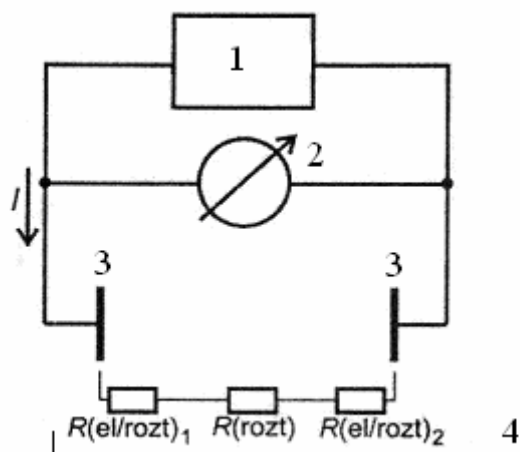
Kontaktní detekci je možno dělit podle několika kritérií, např. podle frekvence použitého střídavého proudu nebo podle druhu zapojení. Je-li tímto kritériem frekvence proudu, pak existuje nízkofrekvenční (ηf) a vysokofrekvenční (νf) konduktometrie. Pokud k rozdělení použijeme konstrukční parametry, je možné rozdělení na dvouelektrodové, čtyřelektrodové a bezelektrodové zapojení.

V ηf vodivostní detekci se používají řádově desetiny až jednotky kHz ⁸ frekvence budícího střídavého signálu. To je výhodné především v tom, že na změně impedance se nepodílí polarizační jevy. Impedance závisí především na množství nosičů trvalého náboje, je určována především ohmickým odporem R , takže je málo závislá na frekvenci.

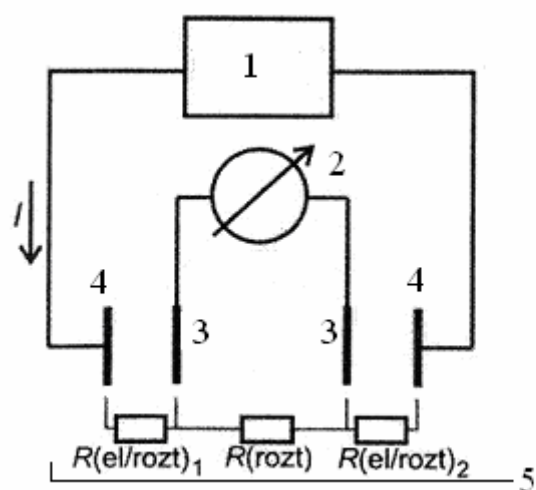
Ve νf vodivostní detekci je frekvence použitého proudu několikařádově vyšší než u ηf konduktometrie. Při vysoké frekvenci střídavého signálu se na celkové měřené impedanci podílí ohmický odpor i reaktance zhruba srovnatelně, proto má vysokofrekvenční vodivost roztoku komplexní charakter a značně závisí na frekvenci použitého střídavého proudu.

Dvouelektrodové uspořádání, na obr. 2.2., je uspořádáním jednoduchým, ale nevýhodným. V důsledku procházejícího proudu se mohou na elektrodách vytvářet různé povlaky, které přispívají k celkovému odporu v nádobce, čímž se měření znehodnocuje. Velikost měřeného napětí proto závisí na celkovém odporu v nádobce - na odporu roztoku, $R(\text{rozt})$, na stavu elektrod a na odporech na rozhraní elektroda/roztok, $R(\text{el/rozt})$.

Ve čtyřelektrodovém uspořádání (obr. 2.3.) prochází proud jednou dvojicí elektrod, mezi něž je vložena další dvojice elektrod. Na vložených elektrodách je pak měřeno napětí za bezproudového stavu. Takto změřené napětí není ovlivněno jevy, k nimž dochází na elektrodách, jimiž teče proud, a závisí proto pouze na odporu roztoku.

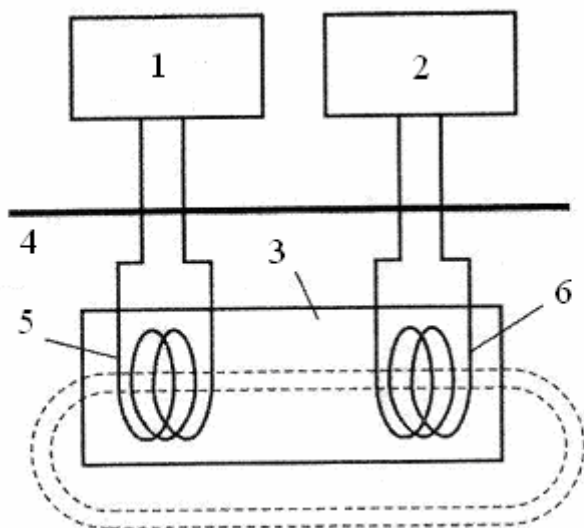


Obr. 2.2. Dvouelektrodivé uspořádní. 1 – zdroj střídavého proudu, 2 – voltmetr, 3 – vodivostní elektrody, 4 – zjednodušený náhradní obvod vodivostní cely.



Obr. 2.3. Čtyřelektrodivé uspořádní. 1 – zdroj střídavého proudu, 2 – voltmetr, 3 – vnitřní elektrody (mezi nimi neteče elektrický proud), 4- vnější elektrody (mezi nimi teče elektrický proud), 5 – náhradní elektrický obvod přisouzený vodivostní cele.

V bezelektrodivém zapojení (obr. 2.4.) jsou v analyzovaném roztoku ponořeny dvě od roztoku zcela izolované cívky. Jedna z cívek, vysílací, je připojena k oscilátoru tak, že touto cívkou prochází střídavý proud o frekvenci řádově desítek kHz. Druhá, přijímací, cívka je připojena k měřidlu, které měří proud naindukovaný v cívce.



Obr. 2.4. Bezelektrodové zapojení vodivostního měření. 1 – vysílací oscilátor, 2 – detektor, 3 – izolační kryt, 4 – analyzovaný roztok, 5 – vysílací cívka, 6 – přijímací cívka.

Velikost naindukovaného proudu je úměrná vodivosti analyzovaného roztoku.

Principiálně toto zapojení funguje jako transformátor, jehož jádrem je analyzovaný roztok.

2.1.2 Bezkontaktní vodivostní detekce

Podstata bezkontaktního měření vodivosti je opět založena na měření střídavého proudu, který prochází analyzovaným prostředím, ale použitý střídavý proud musí mít takovou frekvenci, aby procházel vrstvou izolantu (stěna nádoby, stěna separační kapiláry, vrstva izolačního laku), který odděluje analyzované prostředí od elektrody. Zapojení bezkontaktní vodivostní cely může být dvojího typu: induktivní (cívkové) nebo kapacitní (kondenzátorové).

Induktivní zapojení.

Systém je tvořen detekční celou, kterou představuje nádoba s analyzovaným roztokem umístěná v jádře cívky. Takto vytvořená induktivní cela je zapojena do oscilačního obvodu s laditelným kondenzátorem a lze ji popsat pomocí elektrického náhradního schéma, skládajícího se z ohmického odporu a indukčnosti v sérii. V praktických aplikacích toto uspořádání není příliš časté.

Kapacitní zapojení

Při tomto zapojení tvoří bezkontaktní vodivostní cela kondenzátor, v němž je roztok dielektrikem. Střídavé napětí je přiváděno na jednu z vodivostních elektrod a na druhé elektrodě je snímán odpovídající střídavý proud. Proud přitom musí překonat vrstvu izolantu, který odděluje elektrody od analyzovaného roztoku a roztok uvnitř vodivostní nádoby. Čím je vodivost roztoku v nádobce větší, tím větší proud mezi elektrodami teče. Velikost protékajícího proudu ovlivňuje impedance, Z , viz rov. (2.2).

Prochází-li tedy nádobkou, která obsahuje chemický systém, vysokofrekvenční proud, pak se tento systém chová jednak jako vodič elektrického proudu a jednak jako dielektrikum. Odporová i kapacitní složka impedance vystupují vždy dohromady. V důsledku toho je závislost měřeného parametru na složení chemického systému komplexní povahy a není obecně lineární funkcí. Vhodným uspořádáním aparatury a volbou frekvence budícího signálu lze však dosáhnout toho, že měřený parametr bude přednostně záviset buď na odporové nebo kapacitní složce a jeho závislost na složení chemického systému bude v poměrně úzké oblasti téměř lineární.

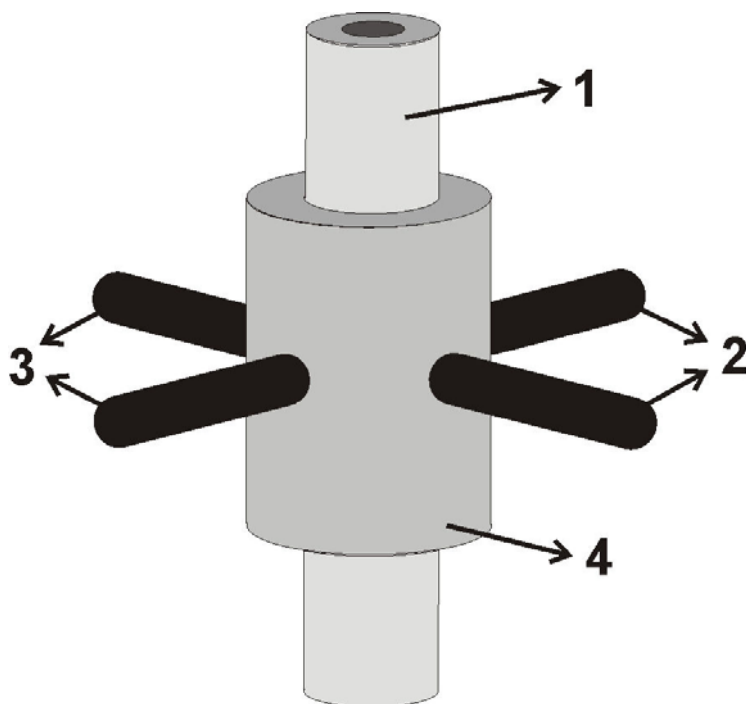
2.2 Hlavní typy bezkontaktních vodivostních detektorů

Přibližně ke konci 70. let 20. stol. existovaly snahy vyvinout nový typ vodivostních detektorů, u kterých by byly potlačeny některé nepříjemné vlastnosti, např. pasivace, polarizace elektrod, atd. Jako nejlepší řešení se ukázaly bezkontaktní vodivostní detektory, které výrazně rozšiřovaly použitelnost vodivostní detekce. Hlavní typy bezkontaktních detektorů jsou popsány v následujících odstavcích.

2.2.1 Bezkontaktní čtyřelektrodový vodivostní detektor

Jedním z prvních typů bezkontaktních vodivostních detektorů byl detektor^{9,10} vyvinutý na počátku 80. let pány B. Gašem a J. Vacíkem pro detekci v izotachofórze. Vlastní detektor byl tvořen kapacitním zapojením čtyř elektrod do kruhu kolem obvodu separační trubičky, obr. 2.5. Elektrody vyrobené z měděných drátků byly v kovovém válečku (Faradayova klec odstiňující detekční celu od vnějších rušivých elektrických polí) uspořádány tak, že svými čelními průřezy těsně přiléhaly k povrchu teflonové separační trubičky. Dvě sousední elektrody sloužily jako vysílač elektrického signálu,

druhé dvě jako přijímač. Jako nedostatek tohoto uspořádání se později projevila nutnost, aby minimální vnitřní průměr trubičky byl alespoň 300 μm .



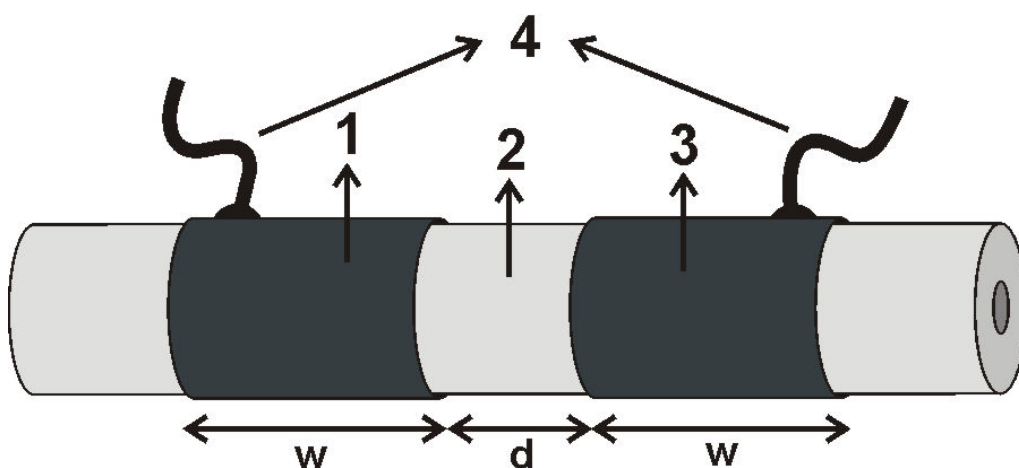
Obr. 2.5. Schéma bezkontaktního vodivostního detektoru pro kapilární izotachoforézu. Podle citované práce^{9,10}. Popis detektoru: 1 – teflonová separační trubička, 2 – snímací elektrody, 3 – vysílací elektrody, 4 – stínění, zemníci mosazný válec.

2.2.2 Bezkontaktní vodivostní detektor s tubulárními elektrodami

V roce 1998 byla nezávisle dvěma skupinami autorů navržena zcela nová konstrukce kapacitní vodivostní cely s tubulárními elektrodami^{11,12}. Tento typ měl proti čtyřelektrodové konstrukci vyšší citlivost, to bylo dáno naprosto odlišnou orientací elektrod vůči separační trubičce či kapiláře. U čtyřelektrodové konstrukce signál procházel napříč kapilárou, kdežto u detektoru s tubulárními elektrodami signál prochází v podélné ose kapiláry. Délka vodivostní cely, určovaná obecně vzdáleností elektrod se takto mnohonásobně zvětšila a tím bylo dosaženo větší citlivosti detekce i v kapilárách běžně používaných v kapilární elektroforéze.

Uspořádání detektoru je znázorněno na obr. 2.6. Detekční celu tvoří úsek

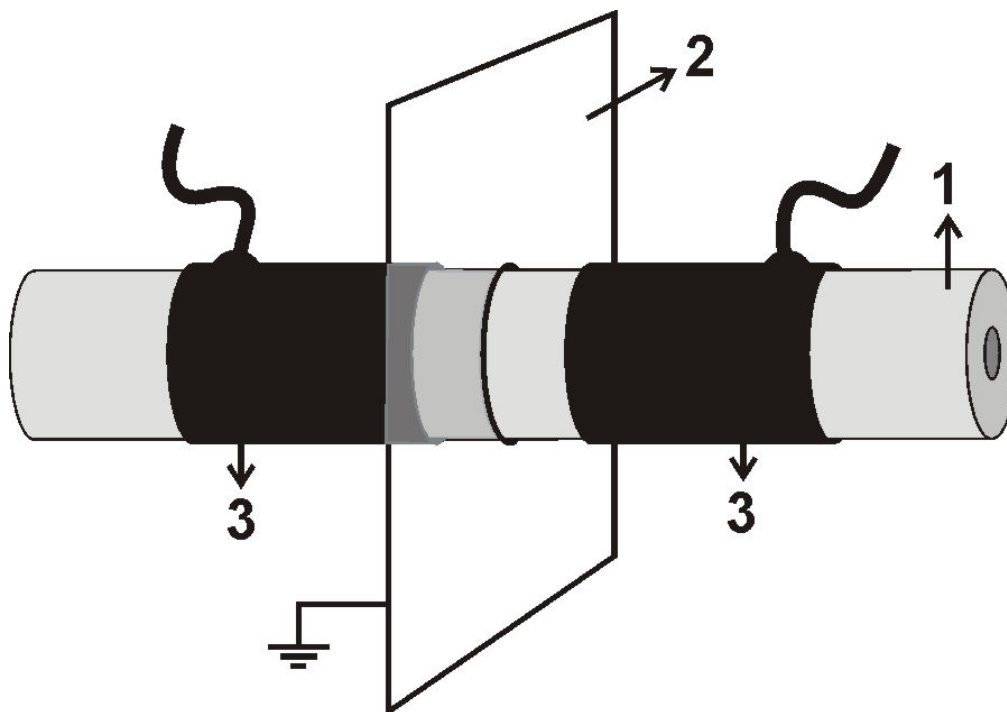
kapiláry, který ohraničují dvě kovové prstencové elektrody, mezi elektrodami je měřena impedance roztoku. Na jednu z vodivostních elektrod je vkládán střídavý napěťový signál, který prochází přes stěnu kapiláry, je ovlivňován vodivostí roztoku v detekční mezeře a poté je snímán druhou vodivostní elektrodou. Délky elektrod se pohybují v rozmezí 0,2-5 cm a jsou od sebe odděleny mezerou 0,4-2,5 mm. Jako materiál elektrod byly použity tenké kovové trubičky (dle práce¹¹ části injekčních jehel). Elektrody byly nasunuty na kapiláru, což umožňovalo jejich případné posunutí po kapiláře či výměnu kapiláry při jejím případném poškození. Nevýhodou byl vznik tenké vzduchové mezery mezi elektrodou a kapilárou, která snižuje citlivost detektoru. Detektory tohoto uspořádání se používají především v kapilární zónové elektroforéze (CZE) .



Obr. 2.6. Bezkontaktní vodivostní detektor s tubulárními elektrodami pro kapilární elektroforézu. Podle citované práce¹¹. 1 - vysílací válcová elektroda šířky w , 2 – detekční mezera šířky d , 3 – přijímací válcová elektroda šířky w , 4 – elektrický kontakt.

Tloušťku vzduchové mezery se podařilo eliminovat navinutím tenkého měděného drátu těsně vedle sebe kolem kapiláry¹³, drátek se poté přetřel cínovou pájkou nebo stříbrným lakem, čímž došlo k zalití mezer mezi drátky a k vytvoření kompaktní elektrody, která ale byla stále částečně posunovatelná podél kapiláry, avšak nepřenositelná na jinou kapiláru. Jiný způsob odstranění vzduchové mezery poskytl napaření vrstvy stříbra na povrch kapiláry^{11,12}. Další modifikací základního detektoru bylo vřazení tenké stínící

kovové folie (hliník, měď) mezi elektrody, obr. 2.7., čímž došlo ke zlepšení poměru signál/šum, protože stínící fólie zabránila parazitnímu přenosu signálu mezi elektrodami mimo roztok, tj. především po povrchu kapiláry.

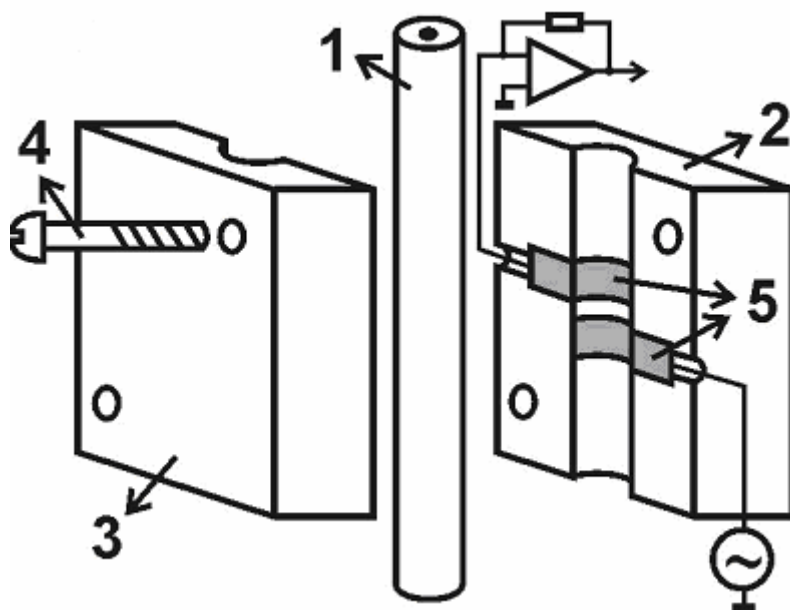


Obr. 2.7. Bezkontaktní vodivostní detektor se stínící fólií mezi tubulárními elektrodami. Podle citované práce ¹², 1 – separační kapilára, 2 – uzemněné stínění (kovová fólie), 3 – vodivostní elektrody.

2.2.3 Bezkontaktní vodivostní detektor se semitubulárními elektrodami

Tato nová konstrukce ¹⁴ odstranila nevýhodu nepřenositelnosti navinutých či napařených elektrod na jinou kapiláru a nevýhodu vzniku vzduchové mezery při použití elektrody vyrobené z kovové trubičky (injekční jehly).

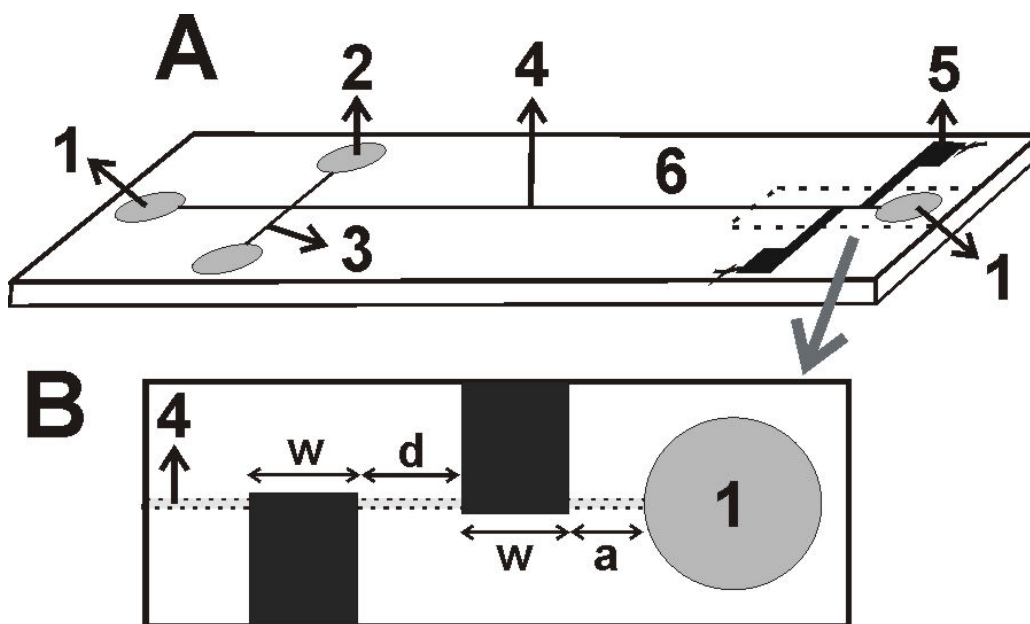
Vlastní detektor se skládá ze dvou plexisklových bloků přišroubovaných k sobě. Uprostřed každého z nich byla vytvořena polokruhová drážka (odpovídající vnějšímu průměru kapiláry), ve které se zafixovala separační kapilára k poloválcovým elektrodám, vyrobeným z tenké hliníkové folie, obr. 2.8.



Obr. 2.8. Bezkontaktní vodivostní detektor se semitubulárními elektrodami pro kapilární elektroforézu. Podle citované práce ¹⁴. 1 – separační kapilára, 2 – nepohyblivá část detektoru (plexisklo), 3 – pohyblivá část detektoru, 4 – šroub, 5 – hliníkové elektrody.

2.2.4 Bezkontaktní vodivostní detektor s planárními elektrodami pro mikročipovou elektroforézu

V poslední době s rozvojem vědy a technologie dochází k snahám o miniaturizaci různých analytických systémů. Jedním z takových systémů je elektroforéza na čipu, kde se ukázalo výhodné použití bezkontaktní vodivostní detekce s planárními elektrodami, obr. 2.9. O širokém uplatnění separace na čipu svědčí řada publikací ^{4,15,16,17,18}. Čip se skládá např. ze dvou polymethylmetakrylátových (PMMA) destiček utěsněných u sebe, mezi nimiž je vytvořena struktura se vzájemně se křížícím separačním a dávkovacím kanálem. Kanálky mají zpravidla čtvercový průřez o rozměrech např. 50x50 μ m. Použité elektrody jsou vyrobené z hliníku a mají obdélníkový tvar. Výhodou tohoto uspořádání je velice jednoduchý konstrukční postup, při kterém jsou planární vodivostní elektrody připevněny na vnější stěnu PMMA mikročipu pomocí běžného epoxidového lepidla. Použití planárních elektrod je ze sterických důvodů pro mikročipovou elektroforézu typické.



Obr. 2.9. PMMA čip s bezkontaktní vodivostní detekcí. Podle citované práce¹⁵.

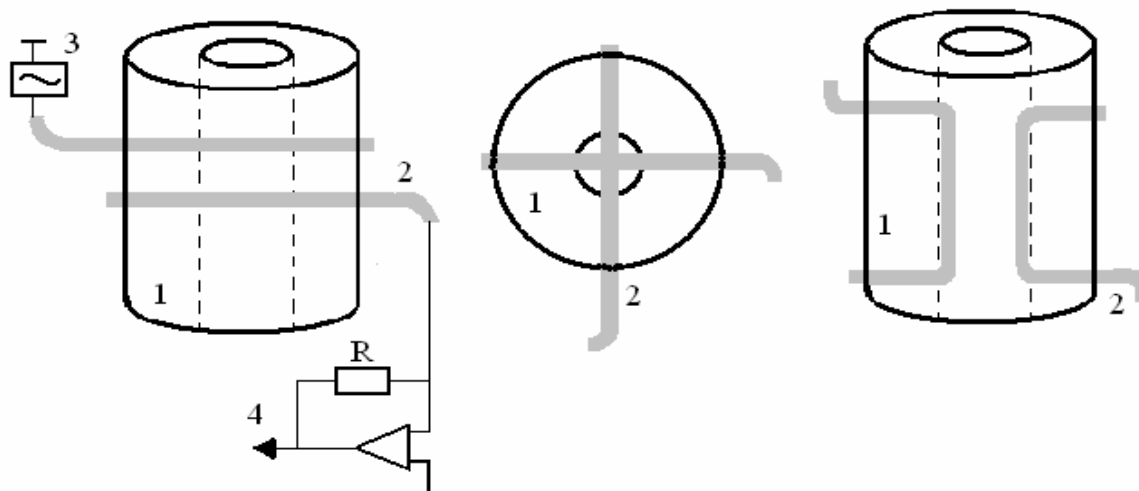
A – Schéma čipu. 1 – vstupní rezervoár s pufrem, 2 – rezervoár se vzorkem, 3 – dávkovací kanál, 4 – separační kanál (50x50 μm), 5 – vodivostní elektrody vyrobené z hliníkové fólie, 6 – PMMA čip (70x24 mm)

B – Zvětšená detekční část mikročipu. w – šířka elektrod (0,8 mm), d – detekční mezera (0,7 mm), a - vzdálenost detekční cely od koncového rezervoáru s pufrem (0,57 mm).

2.2.5 Bezkontaktní vodivostní detektor s drátkovými elektrodami

Pro úplnost výčtu různých konstrukčních uspořádání bezkontaktních vodivostních detektorů je nutno zmínit se o detektorech s izolovanými drátkovými elektrodami. Popis těchto detektorů vychází z práce¹⁹. Detektory jsou tvořeny PTFE trubičkou o vnějším průměru 1/16“ a 0,01“ vnitřním průměru, obr. 2.10. Trubička je kolmo ke své podélné ose perforována a do vzniklých otvorů byly navlečeny izolované měděné vodivostní elektrody. Elektrody jsou běžné měděné drátky, používané v elektrotechnice pro navíjení cívek motorů, potažené filmem modifikovaného polyimidu o tloušťce asi 5 μm . Vyčnívající konce elektrod jsou fixovány tavným lepidlem, jeden konec elektrody je vždy ponechán delší, aby bylo možné elektrodu bez

problémů připojit k měřicímu obvodu. Tloušťky drátků se pohybují v rozmezí 70 – 150 μm . Jak je z obr. 2.10. patrné, byly testovány 3 varianty geometrického uspořádání elektrod.



Obr. 2.10. Schéma geometrického uspořádání bezkontaktních vodivostních cel s drátkovými elektrodami. Podle citované práce¹⁹. Elektrody jsou vzájemně orientované: *A* – paralelně, *B* – kolmo, *C* – podélně – detektor s dlouhými elektrodami. 1 – PTFE trubička, 2 – elektrody, 3 – funkční generátor, 4 – proudový sledovač s výstupem k dalšímu zpracování signálu.

2.3 Využití bezkontaktních vodivostních detektorů pro praktické analýzy

Bezkontaktní vodivostní detektory se vyznačují množstvím velmi výhodných vlastností. Výše popsané detektory jsou například v porovnání se spektrofotometrickými detektory neporovnatelně menší, levnější a na zpracovatelskou techniku méně náročné. Navíc takovýto jednoduchý detektor si je téměř kdokoli schopen sám postavit v laboratoři a není k tomu potřeba žádné zvláštní vybavení za statisíce korun. Široké použití našly bezkontaktní vodivostní detektory například v kapilární zónové elektroforéze (CZE), vysokoúčinné kapalinové chromatografii (HPLC)²⁶, v micelární elektrokinetické chromatografii (MEKC)²⁰, při stanovení jakosti vody, při určení celkového obsahu anorganického uhlíku ve vodě²¹, stanovení cyklodextrinů²², nederivatizovaných aminokyselin^{23,24}, mono a disacharidů²⁵, nebo

alifatických alkoholů²⁰ a ve velké spoustě dalších aplikací.

Jak již bylo řečeno v předchozích odstavcích, je bezkontaktní vodivostní detekce vhodná především pro analýzu malých anorganických iontů a řady organických molekul nesoucích náboj. Nemožnost detekovat molekuly bez náboje lze považovat za asi největší slabinu bezkontaktních vodivostních detektorů. Je však možné kombinovat bezkontaktní vodivostní detektor s detektorem optickým a tím umožnit současnou detekci látek různého typu¹³.

3 Experimentální část

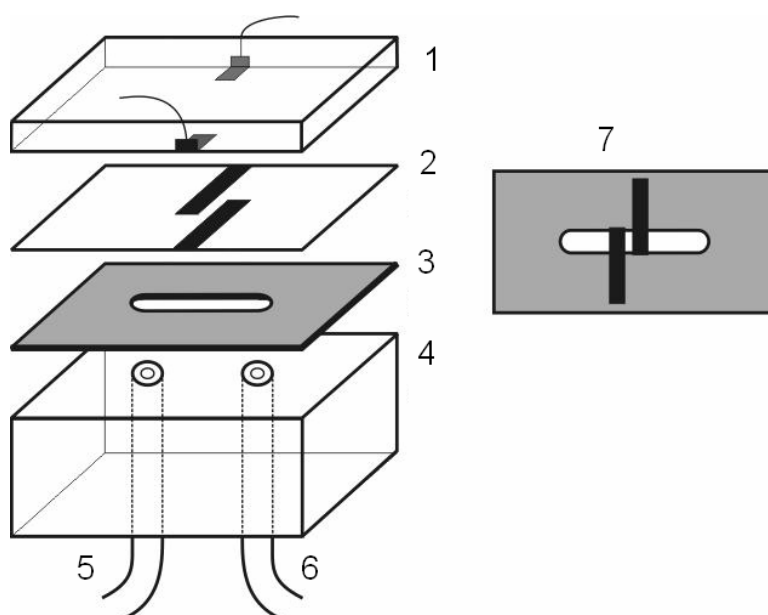
3.1 Popis bezkontaktního tenkovrstvého vodivostního detektoru

První verze thin-layer CCD byla tvořena dvěma elektrodami, vyrobenými z tenké hliníkové fólie (tloušťka 10 μm, délka 10 mm, šířka 2,7 mm, vzájemná vzdálenost 1 mm). Tyto elektrody byly od detekčního prostoru izolovány vrstvou izolepy o tloušťce 50 μm. Samotný detekční prostor vznikl vyříznutím kanálku o šířce 1 mm do vrstvy Nescofilmu (tloušťka 0,24 mm) přímo přiléhající k vrstvě izolepy. Takto vzniklá vodivostní cela byla upevněna mezi plexisklovou deskou s přívody k elektrodám a teflonovým blokem. Jednotlivé části cely byly k sobě přitlačeny šroubem v jednoduchém přípravku. Tímto bylo docíleno uzavření detekčního kanálku a bezproblémového průtoku testované kapaliny.

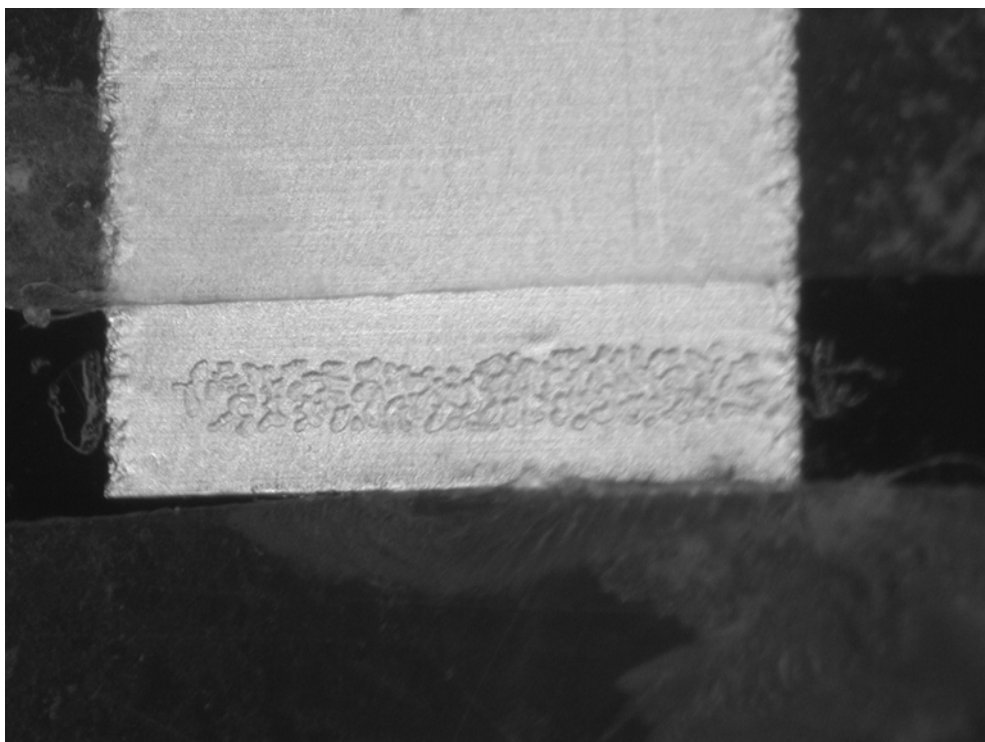
Schema sestavy je na obr. 3.1. Nevýhodou tohoto uspořádání bylo, že při práci s mobilními fázemi obsahujícími organickou komponentu docházelo k porušení kontaktu elektrody s izolační izolepou; mezi kovem elektrody a izolepou vznikaly vzduchové bublinky, které výrazně omezovaly citlivost detektoru, viz obr. 3.2. Rovněž po delší době používání došlo k nabobtnání plexiskla do té míry, že byl detekční kanálek zcela uzavřen. Tento detektor je dále označován jako detektor typu I.

V druhé testované verzi thin-layer CCD byl na základě zkušeností z předchozího měření materiál elektrod volen tak, aby elektrody a jejich izolace tvořily monolit. Vodivostní elektrody byly přímo napařeny na vrstvě izolace, to zamezilo vniknutí par rozpouštědla mezi izolaci a elektrody a tím k podstatné změně chování detektoru, tak jak tomu bylo u detektoru typu I. Jako nejvhodnější materiál pro tento požadavek se

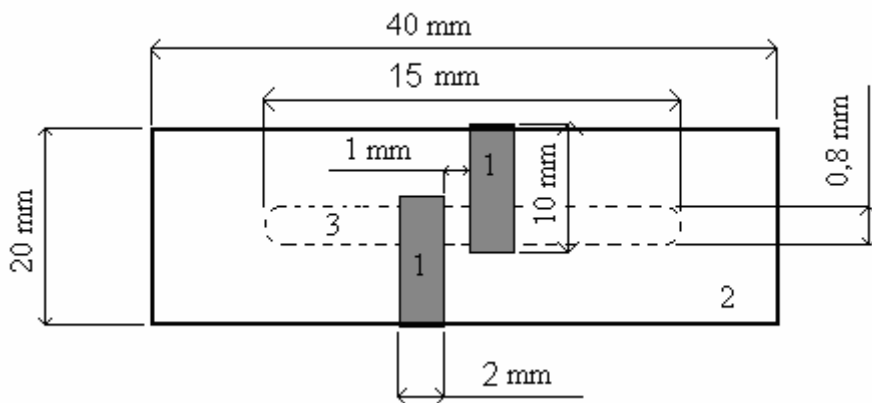
jevil Mylar, což je polymerní fólie pokrytá tenkou vrstvou hliníku. Z Mylaru byl odstřížen kus o velikosti 4x2 cm a na stranu pokrytou hliníkovou vrstvou byl nanesen izolační fotorezist tak, aby hliník zakrytý tímto fotorezistem tvořil vodivostní elektrody. Po vytvrzení fotorezistu, přibližně 3 hodiny, byl Mylar ponořen do koncentrované kyseliny fosforečné o teplotě 80°C a bylo vyčkáno, dokud se všechen nepokrytý hliník nerozpustil. Pak byl Mylar vyjmut, opláchnut deionizovanou vodou a vysušen, vrstva fotorezistu byla odstraněna acetonem. Tímto byly získány vodivostní elektrody o rozměrech: šířka 2 mm, délka 10 mm, vzájemná vzdálenost 1 mm, viz. obr. 3.3.



Obr. 3.1. Thin-layer vodivostní cela. 1– přitlačná destička s kontakty k elektrodám (plexisklo nebo sklo), 2– izolační fólie (izolepa nebo Mylar) s elektrodami, 3– vrstva Nescofilmu, 4– teflonový blok, 5– vstup testovaného roztoku, 6– výstup testovaného roztoku, 7– půdorys detekčního kanálku – uspořádání elektrod.



Obr. 3.2. Defekty vzniklé na kontaktu hliníková elektroda/izolační izolepa v důsledku interakce izolepy s organickými parami v mobilní fázi.



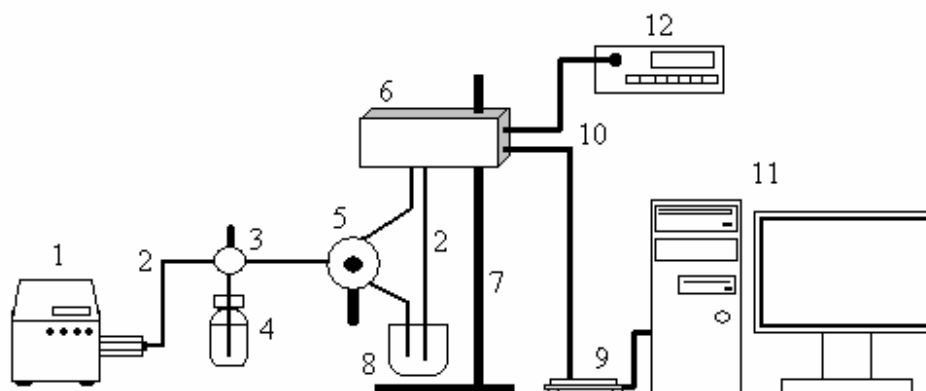
Obr. 3.3. Mylar s hliníkovými elektrodami. 1– vodivostní elektrody, 2– zbytek Mylaru po odleptání napařeného hliníku, 3– průmět detekčního kanálku vytvořeného v přiléhající vrstvě Nescofilm (jde o schematické znázornění, jednotlivé rozměry nejsou v měřítku).

Mylar s vytvořenými elektrodami byl poté přiložen částí na niž nebyly vytvořeny elektrody na vrstvu Nescofilmu s vyříznutým detekčním kanálem. Celá

sestava je obdobná té na obr. 3.1. Na rozdíl od předchozího detektoru zde byly kontakty k elektrodám místo na plexiskle vytvořeny na skleněné destičce, tímto se zabránilo absorpci par rozpouštědel a následnému bobtnání plexiskla, což v předchozí verzi celý vedlo k ucpání detekčního kanálu. Takto vyrobený detektor má vnitřní objem přibližně 2,9 μl a geometrický detekční objem mezi elektrodami je pouhý 1 μl . Tento detektor je dále označován jako detektor typu II.

3.2 Měřicí aparatura

Během základního testování detektoru byla používána aparatura zobrazená na obr. 3.4.

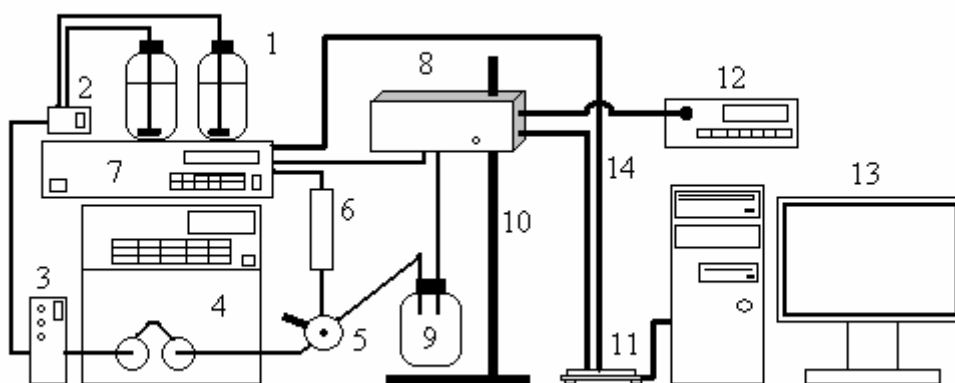


Obr. 3.4. Používaná aparatura pro základní testování detektoru. 1– lineární pumpa, 2– teflonové trubičky, 3– ventil, 4– zásoba mobilní fáze, 5– šesticestný dávkovací ventil, 6– detektor ve Faradayově kleci, 7– stojan, 8– odpadní nádoba, 9– měřicí karta, 10– datové kabely, 11– osobní počítač, 12– zdroj střídavého signálu.

Jako zdroj proudu mobilní fáze sloužilo lineární čerpadlo (Labio a.s., ČR), na kterém byl na základě předběžného testu nastaven průtok 150 $\mu\text{l}/\text{min}$. Jako mobilní fáze byly používány, v závislosti na druhu měření, deionizovaná voda, roztoky methanolu (MeOH) či acetonitrilu (AcN). Mobilní fáze proudila teflonovými hadičkami k šesticestnému ventilu (ECOM spol. s.r.o., objem dávkovací smyčky 10 μl), v němž byl do mobilní fáze injektován testovaný roztok. Zóna vzorku poté putovala do detektoru.

Na jednu z elektrod vodivostní cely byl po jejím zapojení do obvodu přiváděn střídavý elektrický proud sinusového průběhu, jehož frekvenci a amplitudu bylo možné měnit na funkčním generátoru FG 503 (Motech Industries). Při všech měřeních byla používána maximální hodnota amplitudy signálu, kterou funkční generátor poskytuje, tj. 10 V. Signál z druhé elektrody byl zpracován v elektronickém obvodu detektoru, tj. byl usměrněn, zesílen, snímán měřicí kartou PCI 6034 a zaznamenáván a následně zpracováván v osobním počítači (PC Brave 1,41 Mhz CPU, 256 MB RAM) pomocí programu LabWiew (National Instruments, U.S.A.) a Origin 7.0 (OriginLab, U.S.A.). Vyhodnocována byla velikost signálu po nadávkování vzorku do proudu mobilní fáze. Testovaný roztok byl po průchodu detektorem veden do odpadní nádoby.

Orientační testování použitelnosti vyvinutého thin-layer CCD bylo prováděno na HPLC aparatuře, jejíž schema je na obr. 3.5.



Obr. 3.5. Schéma HPLC přístroje. 1– zásobní lahve s mobilní fází, 2– směšovač, 3– odplynovač, 4– reciproční pumpa, 5– šesticestný ventil, 6– separační kolona, 7– UV detektor, 8– testovaný detektor, 9– odpadní láhev, 10– stojan, 11– měřicí karta k CSW 1.6, 12– zdroj střídavého napětí, 13– osobní počítač, 14– datové kabely.

Roztok mobilní fáze vznikl míšením čistých kapalin (voda a AcN) ve směšovači, následně z něj byly v odplynovači odstraňovány nežádoucí plynné látky. Takto připravená mobilní fáze byla pomocí reciproční pumpy (ECOM, ČR) pumpována rychlostí 0,8 ml/min k šesticestnému dávkovacímu ventilu, pomocí něhož byla do proudu mobilní fáze nadávkována zóna vzorku o objemu 10 μ l. Zóna vzorku poté putovala na kolonu MAG1 4,6x150 mm, biospher PSI 100 C18 5 μ m, kde byly

jednotlivé složky vzorku separovány. Za kolonou byl zapojen UV detektor LCD 2084 (ECOM ČR), který pracoval při vlnové délce 220 nm. Za UV detektorem byl zapojen testovaný thin-layer CCD, pracující při napětí sinusového průběhu a optimální frekvenci 100kHz. Veškerý odpad byl zachycován do odpadní lahve a následně patřičně zlikvidován. Jako vzorek byla zvolena směs látek: kapronát sodný, kyselina oktansulfonová, kyselina benzoová a kyselina mléčná o koncentracích od 10^{-3} do 10^{-5} mol/l. Na počítači byl pomocí programu CSW 1.6 zaznamenáván a následně i vyhodnocován časový průběh odezev jak z thin-layer CCD, tak i z UV detektoru.

3.3 Používané chemikálie

Během měření byly používány tyto chemikálie:

Chlorid draselný, Suprapur, Merck, SRN

Deionizovaná voda, Milli-Q Plus, Millipore, USA

Methanol p.a., Lach-Ner, ČR

Acetonitril, LiChrosolv pro HPLC

Kyselina oktansulfonová p.a.,

Kyselina mléčná p.a.,

Kyselina benzoová p.a.,

Kapronát sodný p.a.,

4 Výsledky a diskuze

4.1 Tenkovrstvý vodivostní detektor, typ I

4.1.1 Závislost odezvy přístroje na frekvenci procházejícího proudu

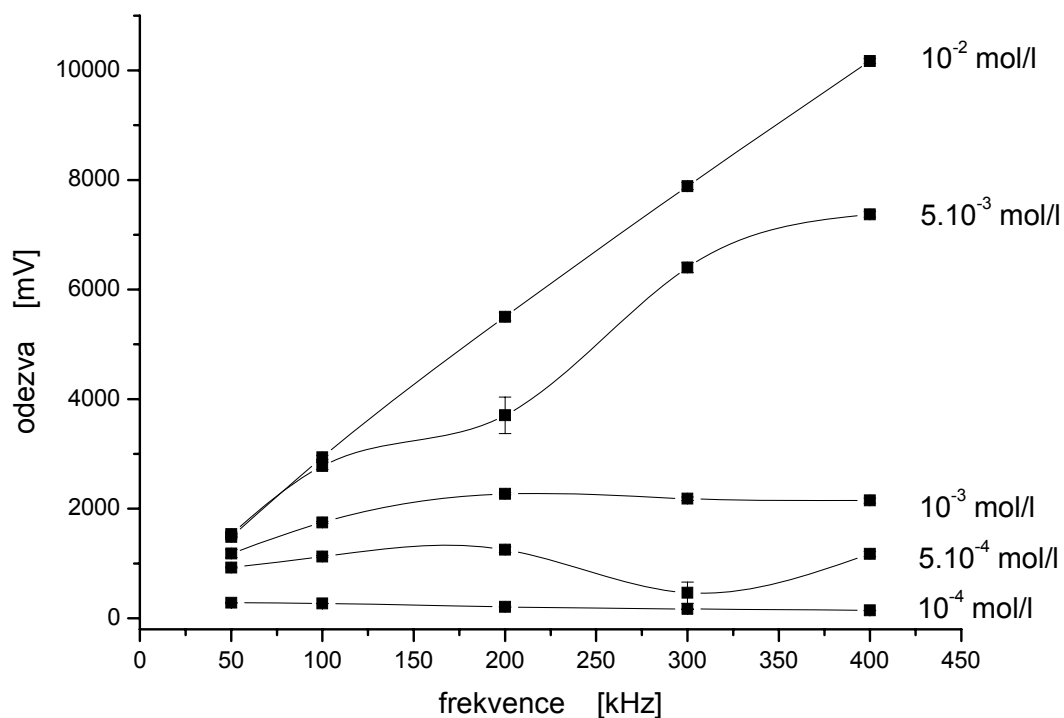
Princip měření u tohoto detektoru je založen na měření střídavého proudu, který prochází testovaným roztokem. Jelikož je možné frekvenci procházejícího proudu měnit v širokém intervalu hodnot, muselo být zjištěno, jak se mění odezva detektoru se změnou frekvence procházejícího proudu.

Pro měření byl rozpuštěním potřebného množství KCl připraven zásobní roztok 10^{-2} M KCl. Následným ředěním deionizovanou vodou byla připravena řada roztoků KCl o koncentracích 10^{-2} mol/l až 10^{-6} mol/l. Vždy před každou sérií měření byla na

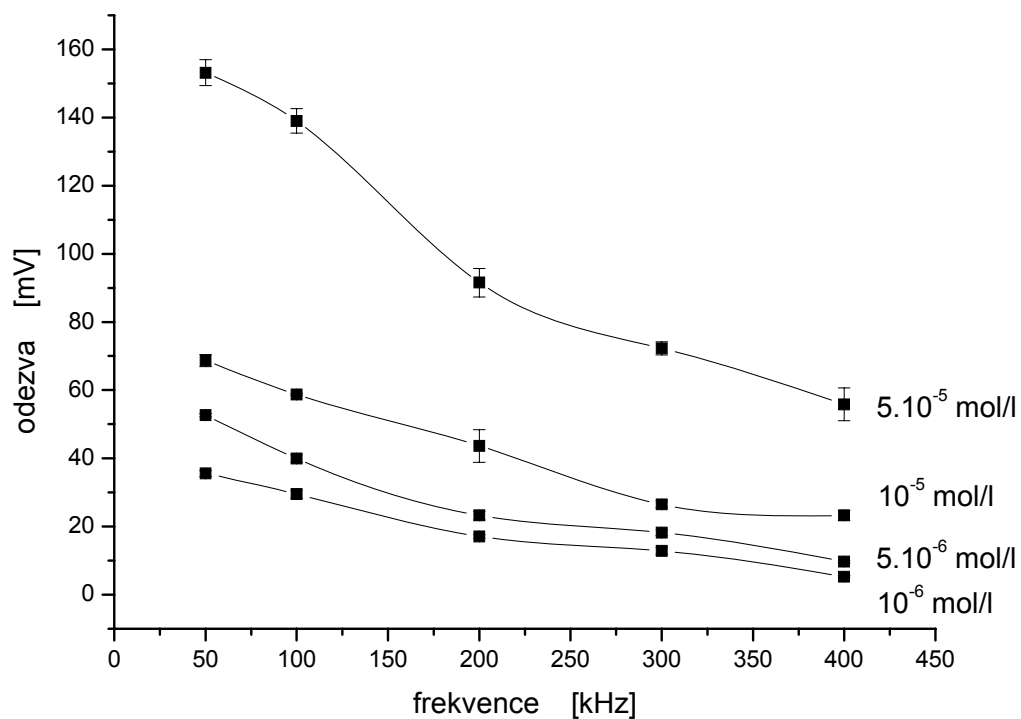
funkčním generátoru nastavena požadovaná frekvence procházejícího proudu. Následně byly testované roztoky pomocí šesticestného ventilu vpraveny do proudu mobilní fáze, v tomto případě deionizované vody, a byla zaznamenávána odezva. Frekvence proudu byla postupně nastavována na 50, 100, 200, 300 a 400 kHz. Získané hodnoty odezvy pro jednotlivé roztoky v závislosti na použité frekvenci proudu jsou uvedeny v tab. 4.1. Tato data byla graficky zpracována a pro větší přehlednost rozdělena do dvou obrázků, obr. 4.1 a obr. 4.2.

Tabulka 4.1. Hodnoty odezev thin-layer CCD typu I v závislosti na frekvenci střídavého signálu pro různé koncentrace roztoku KCl. Hodnoty odezev jsou uvedené jako medián tří měření opatřený intervalem spolehlivosti.

Frekvence [kHz] →	50	100	200	300	400
Koncentrace [mol.l ⁻¹] ↓	Odezva [mV]				
1,0.10 ⁻²	1485,60 ± 10,66	2939,90 ± 36,70	5502,51 ± 76,44	7888,80 ± 67,08	10173,00 ± 44,20
5,0.10 ⁻³	1536,20 ± 11,18	2782,62 ± 65,78	3705,73 ± 335,79	6404,71 ± 87,10	7372,71 ± 53,56
1,0.10 ⁻³	1182,50 ± 7,28	1749,86 ± 19,76	2273,96 ± 21,84	2181,45 ± 30,68	2151,16 ± 47,58
5,0.10 ⁻⁴	927,06 ± 10,44	1129,54 ± 14,43	1252,39 ± 51,48	465,68 ± 193,12	1170,73 ± 46,15
1,0.10 ⁻⁴	281,93 ± 4,65	269,89 ± 2,42	328,48 ± 9,92	122,42 ± 54,30	143,14 ± 3,86
5,0.10 ⁻⁵	153,17 ± 3,80	139,00 ± 3,60	91,52 ± 14,23	72,23 ± 1,93	55,83 ± 4,84
1,0.10 ⁻⁵	68,73 ± 1,77	58,75 ± 0,32	63,63 ± 4,81	26,50 ± 1,02	23,28 ± 1,40
5,0.10 ⁻⁶	52,68 ± 0,50	39,93 ± 1,12	23,22 ± 1,12	18,19 ± 0,82	9,74 ± 0,41
1,0.10 ⁻⁶	35,55 ± 0,85	29,51 ± 1,16	17,07 ± 0,54	12,87 ± 1,04	5,18 ± 0,36



Obr. 4.1. Závislost odezvy přístroje na frekvenci procházejícího proudu z dat v tabulce 4.1 pro oblast vyšších koncentrací. Koncentrace jsou uvedené u křivek.



Obr. 4.2. Závislost odezvy přístroje na frekvenci procházejícího proudu z dat v tabulce 4.1 pro oblast nižších koncentrací. Koncentrace jsou uvedené u křivek.

Z obrázku 4.1. a 4.2. jsou patrné dva zcela protichůdné trendy. Ve studovaném oboru frekvencí v oblasti vyšších koncentrací odezva detektoru roste s frekvencí vstupního signálu. Naopak při nízkých koncentracích analytu má rostoucí hodnota frekvence vstupního signálu za následek snižování odezvy detektoru. Nalezení optimální frekvence proudu tedy není zcela triviální záležitostí. Frekvence vstupního signálu by měla být volena s ohledem na koncentraci testovaného roztoku. Vzhledem k tomu, že v reálných systémech jsou detekovány především roztoky o nízkých koncentracích analytu a koncentrované roztoky poskytují velké odezvy i při nízkých frekvencích, byla za optimální frekvenci zvolena hodnota 100 kHz.

4.1.2 Kalibrace detektoru roztoky KCl

Na základě výsledků předchozího měření byla na funkčním generátoru nastavena frekvence 100 kHz. Tato hodnota zůstala konstantní při všech následujících měřeních. Pro kalibraci přístroje byl připraven zásobní roztok 0,1 M KCl rozpuštěním přesného množství KCl v deionizované vodě. Bylo připraveno 100 ml zásobního roztoku ve skleněné odměrné baňce. Poté byla ředěním tohoto roztoku deionizovanou vodou vytvořena řada roztoků o koncentracích: 1×10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 1×10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 1×10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 1×10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 1×10^{-6} M KCl. Pomocí programu dostupnému na internetové stránce²⁷ byla každému z těchto roztoků přiřazena hodnota měrné vodivosti. Roztoky byly dávkovány do proudu deionizované vody shodným způsobem jako v kapitole 4.1.1. Získané hodnoty jsou uvedeny v tabulce 4.2.

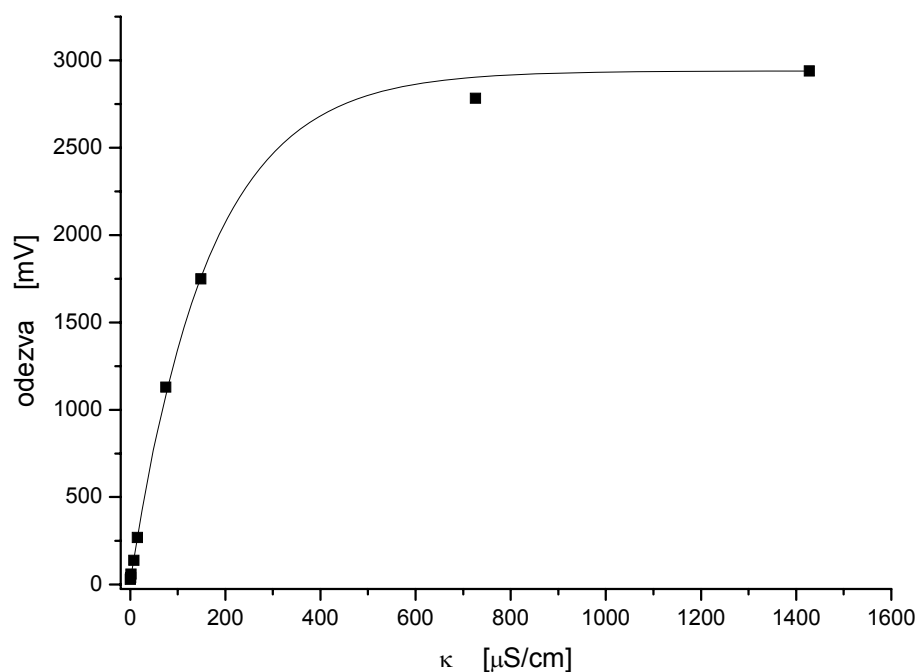
Grafickým zpracováním dat z tab. 4.2 byla získána kalibrační závislost odezvy detektoru, y , na měrné vodivosti testovaného roztoku KCl, κ , která je uvedena na obr. 4.3. Experimentální body byly proloženy exponenciální regresní křivkou,

$$y [\text{mV}] = A1 \exp \left[\frac{\kappa [\mu\text{S/cm}]}{t1} \right] + y0, \quad (4.1)$$

s parametry: $A1 = -2918 \pm 23,75$, $y0 = 2939,9 \pm 0$, $t1 = -164,75 \pm 6,42$ a koeficientem determinace, $r^2 = 0,998$.

Tabulka 4.2. Koncentrace a měrné vodivosti roztoků KCl a jim odpovídající odezvy thin-layer CCD typu I. Hodnoty odezev jsou vyjádřeny mediánem, byly získány ze tří měření a jsou opatřeny intervalem spolehlivosti.

Koncentrace [mol.l ⁻¹]	Měrná vodivost [μS.cm ⁻¹]	Odezva detektoru [mV]
1,0.10 ⁻²	1428,00	2939,90 ± 36,79
5,0.10 ⁻³	725,90	2782,61 ± 65,78
1,0.10 ⁻³	148,90	1749,80 ± 19,76
5,0.10 ⁻⁴	75,10	1129,5 ± 14,43
1,0.10 ⁻⁴	15,40	269,89 ± 2,41
5,0.10 ⁻⁵	7,90	139,02 ± 3,60
1,0.10 ⁻⁵	1,90	58,75 ± 0,31
5,0.10 ⁻⁶	0,95	39,93 ± 1,11
1,0.10 ⁻⁶	0,19	29,51 ± 1,16



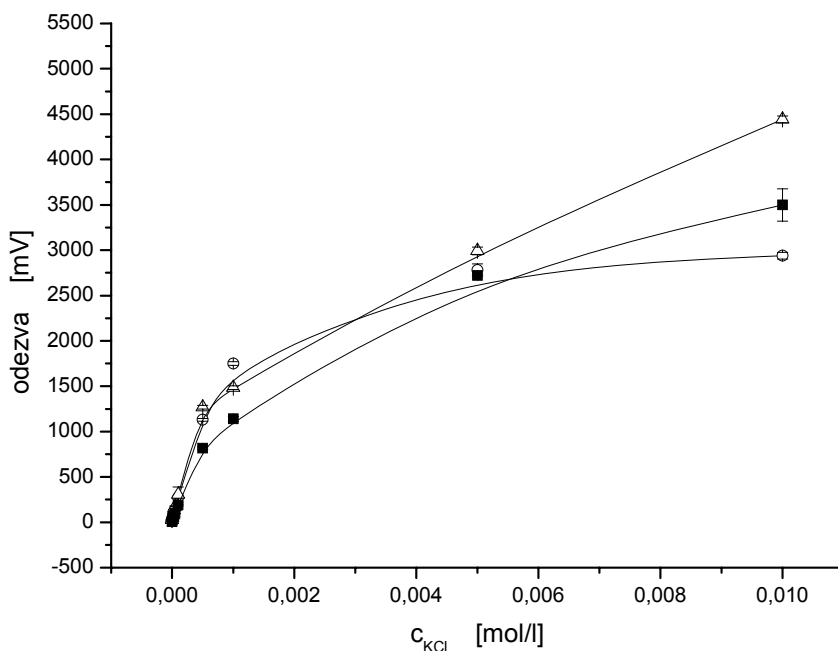
Obr. 4.3. Kalibrační křivka. Závislost odezvy thin-layer CCD typu I na měrné vodivosti měřeného roztoku.

4.1.3 Vliv použité mobilní fáze na odezvu přístroje

Cílem tohoto měření bylo ověřit vliv použitého rozpouštědla v mobilní fázi na chování detektoru. Testovány byly opět roztoky KCl o koncentracích 1×10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 1×10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 1×10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 1×10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 1×10^{-6} M v 40% vodném roztoku methanolu a 40% vodném roztoku acetonitrilu. Tyto roztoky byly získány naředěním zásobního roztoku 10^{-2} M KCl příslušným rozpouštědlem, zásobní roztok byl připraven rozpuštěním přesného množství KCl v příslušném rozpouštědle. 40% roztoky MeOH a AcN byly získány rozpuštěním potřebného množství MeOH či AcN v deionizované vodě. Naměřené hodnoty odezev jsou uvedeny v tab. 4.3 a graficky znázorněny na obr. 4.4.

Tabulka 4.3. Hodnoty odezev thin-layer CCD typu I v závislosti na koncentraci roztoku KCl ve dvou mobilních fázích. Hodnoty odezev jsou uvedené jako medián tří měření opatřený oborem spolehlivosti.

Mobilní fáze →	40% MeOH	40% AcN
Koncentrace [mol.l ⁻¹]↓	Odezva [mV]	
$1,0 \cdot 10^{-2}$	$3499,60 \pm 177,97$	$2939,90 \pm 36,79$
$5,0 \cdot 10^{-3}$	$2721,70 \pm 12,74$	$2782,61 \pm 65,78$
$1,0 \cdot 10^{-3}$	$1140,52 \pm 26,52$	$1749,80 \pm 19,76$
$5,0 \cdot 10^{-4}$	$816,99 \pm 12,48$	$1129,5 \pm 14,43$
$1,0 \cdot 10^{-4}$	$190,90 \pm 9,48$	$269,89 \pm 2,41$
$5,0 \cdot 10^{-5}$	$96,68 \pm 4,57$	$139,02 \pm 3,60$
$1,0 \cdot 10^{-5}$	$68,23 \pm 1,98$	$58,75 \pm 0,31$
$5,0 \cdot 10^{-6}$	$21,29 \pm 0,19$	$39,93 \pm 1,11$
$1,0 \cdot 10^{-6}$	$5,66 \pm 0,89$	$29,51 \pm 1,16$



Obr. 4.4. Vliv složení mobilní fáze na odezvu thin-layer CCD typu I. Symboly: \triangle – 40% roztok AcN, \blacksquare – 40% roztok MeOH, \odot – deionizovaná voda. Hodnoty pro sestrojení grafu pocházejí z tab. 4.3.

Z tohoto obrázku lze usuzovat, že složení mobilní fáze má vliv na měřenou odezvu přístroje. Avšak jak je tento vliv velký nelze přesně určit. Jak bylo výše zmíněno, obr. 3.2, došlo během měření v roztocích s organickým rozpouštědlem ke vzniku bublinek u elektrod. Tím se podstatně změnily vlastnosti cely. Z tohoto důvodu není možné říci který faktor, jestli změna mobilní fáze či vznik bublinek, se na změně průběhu odezvy podílí větší měrou.

4.2 Tenkovrstvý vodivostní detektor, typ II

4.2.1 Závislost odezvy přístroje na frekvenci procházejícího proudu

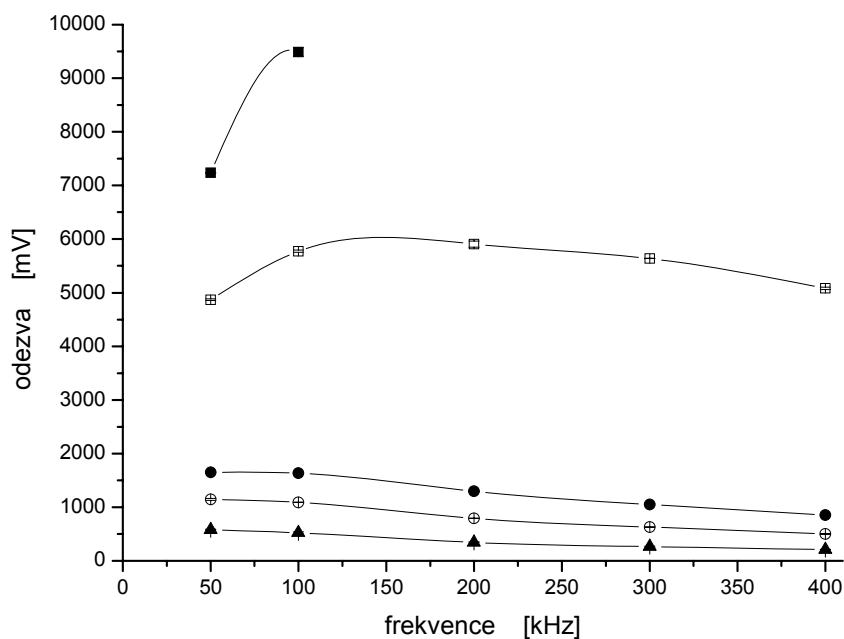
Podobně jako u thin-layer CCD typu I bylo zjišťováno, jak se mění odezva detektoru se změnou frekvence procházejícího proudu.

Pro měření byl rozpuštěním potřebného množství KCl připraven 10^{-2} M zásobní roztok KCl. Následným ředěním deionizovanou vodou byla připravena řada roztoků KCl o koncentracích 10^{-3} mol/l až 10^{-8} mol/l. Vždy před každou sérií měření byla na zdroji proudu nastavena požadovaná frekvence procházejícího proudu a následně byly

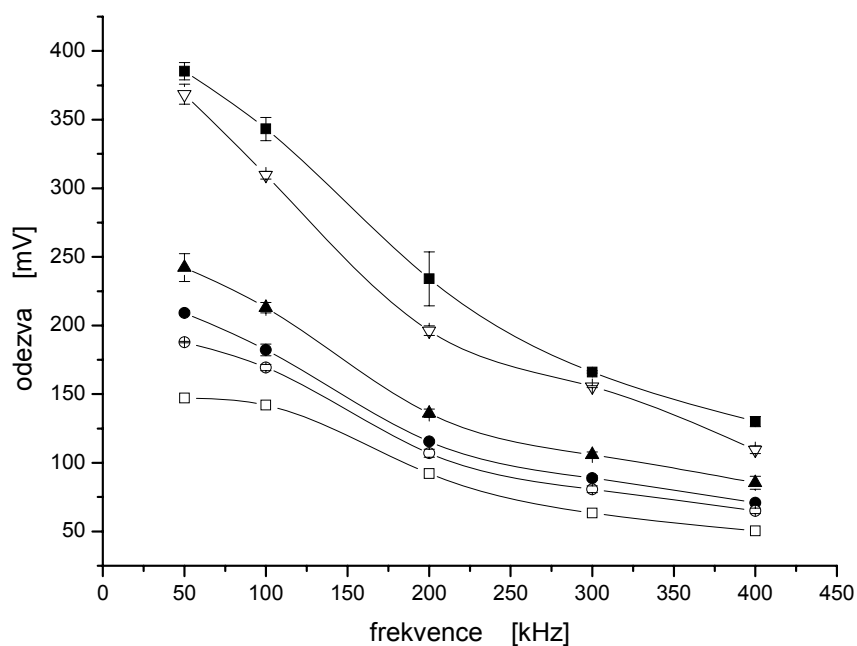
roztoky otestovány. Frekvence proudu byla postupně nastavována na 50, 100, 200, 300 a 400 kHz. Získané hodnoty odezvy pro jednotlivé roztoky v závislosti na použité frekvenci proudu jsou uvedeny v tabulce 4.4. Tato data byla graficky zpracována a pro větší přehlednost rozdělena do dvou obrázků (obr. 4.5 a obr. 4.6.).

Tabulka 4.4. Hodnoty odezev thin-layer CCD typu II v závislosti na frekvenci střídavého signálu pro různé koncentrace roztoku KCl. Hodnoty odezev jsou uvedené jako medián tří měření opatřený intervalem spolehlivosti.

Frekvence [kHz]	50	100	200	300	400
Koncentrace [mol.l ⁻¹] \downarrow	Odezva [mV]				
1,0.10 ⁻³	7235,63 $\pm 1,85$	9490,79 $\pm 78,42$	mimo rozsah	mimo rozsah	mimo rozsah
5,0.10 ⁻⁴	4870,28 $\pm 12,97$	5773,47 $\pm 20,14$	5908,81 $\pm 56,25$	5640,08 $\pm 2,99$	5081,99 $\pm 20,42$
1,0.10 ⁻⁴	1653,43 $\pm 5,06$	1633,59 $\pm 15,11$	1294,29 $\pm 4,02$	1050,26 $\pm 9,85$	851,72 $\pm 3,21$
5,0.10 ⁻⁵	1144,24 $\pm 18,06$	1091,72 $\pm 3,26$	793,85 $\pm 2,78$	627,73 $\pm 6,58$	499,55 $\pm 4,60$
1,0.10 ⁻⁵	581,08 $\pm 8,80$	519,41 $\pm 17,13$	345,12 $\pm 5,98$	264,24 $\pm 9,45$	208,42 $\pm 2,63$
5,0.10 ⁻⁶	385,28 $\pm 6,31$	343,18 $\pm 8,49$	234,08 $\pm 19,64$	166,13 $\pm 0,83$	130,04 $\pm 3,73$
1,0.10 ⁻⁶	147,27 $\pm 2,60$	142,01 $\pm 10,37$	92,18 $\pm 8,76$	63,34 $\pm 0,29$	50,4 $\pm 0,99$
5,0.10 ⁻⁷	209,25 $\pm 1,52$	182,23 $\pm 4,24$	115,47 $\pm 1,07$	88,86 $\pm 1,65$	70,86 $\pm 0,29$
1,0.10 ⁻⁷	187,93 $\pm 0,64$	169,45 $\pm 2,27$	106,88 $\pm 2,93$	80,76 $\pm 2,46$	65,04 $\pm 1,98$
5,0.10 ⁻⁸	242,09 $\pm 10,13$	212,97 $\pm 3,78$	136,02 $\pm 2,99$	105,84 $\pm 1,98$	85,42 $\pm 4,81$
1,0.10 ⁻⁸	368,47 $\pm 7,24$	309,53 $\pm 2,82$	196,21 $\pm 2,47$	155,53 $\pm 0,73$	109,49 $\pm 2,85$



Obr. 4.5. Závislost odezvy přístroje na frekvenci procházejícího proudu z dat v tabulce 4.4 pro oblast vyšších koncentrací. Koncentrace dle symbolů: ■ – $1 \cdot 10^{-3}$ mol/l, □ – $5 \cdot 10^{-4}$ mol/l, ● – $1 \cdot 10^{-4}$ mol/l, ⊕ – $5 \cdot 10^{-5}$ mol/l, ▲ – $1 \cdot 10^{-5}$ mol/l.



Obr. 4.6. Závislost odezvy přístroje na frekvenci procházejícího proudu z dat v tabulce 4.4 pro oblast nižších koncentrací. Koncentrace dle symbolů: ■ – $5 \cdot 10^{-6}$ mol/l, □ – $1 \cdot 10^{-6}$ mol/l, ● – $5 \cdot 10^{-7}$ mol/l, ⊕ – $1 \cdot 10^{-7}$ mol/l, ▲ – $5 \cdot 10^{-8}$ mol/l, ▽ – $1 \cdot 10^{-8}$ mol/l.

Podobně jako v případě detektoru I typu, lze z výše uvedených obrázků vysledovat dva protichůdné trendy. Pro velké koncentrace analytu odezva s frekvencí proudu roste. Pro nižší koncentrace analytu naopak odezva s rostoucí frekvencí klesá. Avšak interval, kde je druhý trend patrný, je mnohem větší než v případě detektoru I. Na základě tohoto zjištění je volba optimální frekvence vcelku jasná. Z důvodu dobrých odezev na nízké koncentrace analytu a dobré stability základní linie signálu detektoru, byla za optimální zvolena opět frekvence 100 kHz.

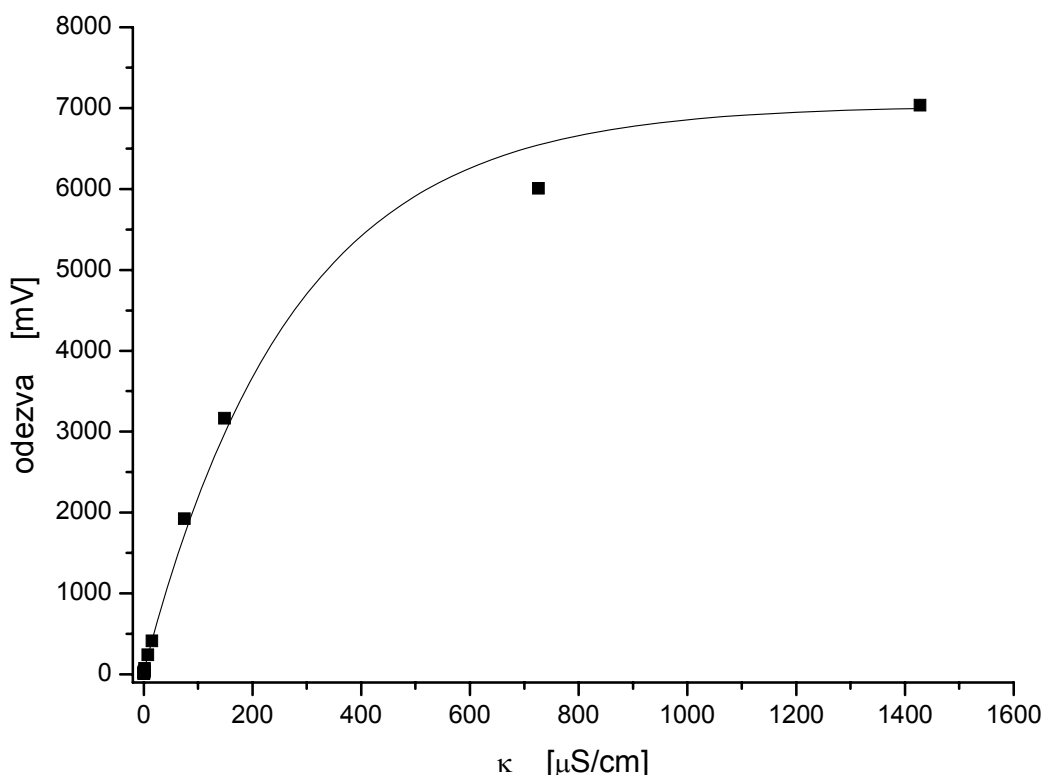
4.2.2 Kalibrace detektoru roztoky KCl

Nejprve byl připraven zásobní roztok 0,2 M KCl rozpuštěním přesného množství KCl v deionizované vodě. Bylo připraveno 100 ml zásobního roztoku ve skleněné odměrné baňce. Poté byla ředěním tohoto roztoku deionizovanou vodou vytvořena řada roztoků o koncentracích 1×10^{-2} až 5×10^{-7} mol/l KCl. Roztoky byly poté otestovány standardním způsobem. Měření probíhalo v jedné sérii po třech měřeních a získané hodnoty jsou uvedeny v tab. 4.5.

Měření byla získána kalibrační závislost odezvy detektoru na měrné vodivosti testovaného roztoku KCl (obr. 4.7.). Experimentální body byly proloženy exponenciální regresní křivkou (rov. 4.1) s parametry: $A1 = -6992,67 \pm 62,39$, $y_0 = 7034,40 \pm 0,00$ $t1 = -273,14 \pm 17,77$ a koeficientem determinace, $r^2 = 0,9949$.

Tabulka 4.5. *Koncentrace a měrné vodivosti roztoků KCl a jim odpovídající odezva detektoru. Hodnoty odezvy jsou vyjádřeny mediánem, byly získány ze tří měření probíhajících v jednom pracovním dni a jsou opatřeny intervalem spolehlivosti.*

Koncentrace [mol.l ⁻¹]	Měrná vodivost [μS.cm ⁻¹]	Odezva detektoru [mV]
1,0.10 ⁻²	1428,00	7034,42 ± 27,30
5,0.10 ⁻³	725,90	6008,83 ± 27,30
1,0.10 ⁻³	148,90	3164,10 ± 39,59
5,0.10 ⁻⁴	75,10	1923,17 ± 9,49
1,0.10 ⁻⁴	15,40	411,92 ± 6,83
5,0.10 ⁻⁵	7,90	239,41 ± 3,07
1,0.10 ⁻⁵	1,90	70,81 ± 2,99
8,0.10 ⁻⁵	1,52	42,71 ± 0,52
5,0.10 ⁻⁶	0,95	35,11 ± 0,35
2,0.10 ⁻⁶	0,38	23,72 ± 0,33
1,0.10 ⁻⁶	0,19	18,44 ± 0,28
8,0.10 ⁻⁷	0,15	14,79 ± 1,22
5,0.10 ⁻⁷	0,01	8,88 ± 0,48



Obr. 4.7. Kalibrační křivka. Závislost odezvy thin-layer CCD typu II na měrné vodivosti měřeného roztoku.

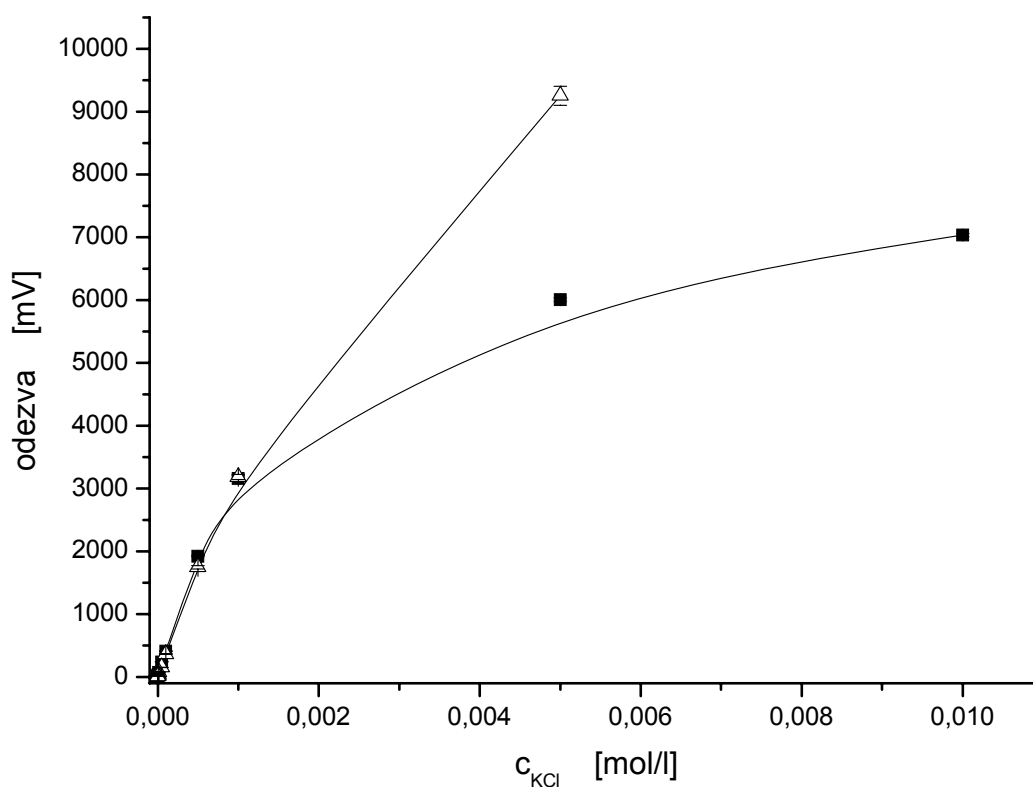
4.2.3 Vliv použité mobilní fáze na odezvu přístroje

V souladu s plánovaným použitím tohoto detektoru ve vysokoúčinné kapalinové chromatografii (HPLC), kde je velmi běžným rozpouštědlem acetonitril, byl zkoumán vliv AcN na odezvu přístroje. Pro měření byla použita aparatura z obr. 3.4. a roztoky KCl o koncentracích 5×10^{-3} M, 1×10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 1×10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 1×10^{-5} M, 8×10^{-6} M, 5×10^{-6} M, 2×10^{-6} M, 1×10^{-6} M, 8×10^{-7} M, 5×10^{-7} M v 5% roztoku acetonitrilu. Tyto roztoky byly získány naředěním zásobního roztoku 10^{-2} M KCl příslušným rozpouštědlem, zásobní roztok byl připraven rozpuštěním přesného množství KCl v příslušném rozpouštědle. 5% roztok AcN byl získán rozpuštěním potřebného množství AcN v deionizované vodě. Naměřené hodnoty jsou uvedeny v tab. 4.6. Měření bylo získána závislost odezvy detektoru na koncentraci KCl v 5% AcN a pro porovnání je zobrazen též průběh odezvy v deionizované vodě, viz obr. 4.8.

Naměřenými body pro obě rozpouštědla byly proloženy exponenciální regresní křivky (4.1), parametry těchto křivek jsou uvedeny v tab.4.7.

Tabulka 4.6. Hodnoty odezev thin-layer CCD typu II na koncentraci roztoku KCl v 5% AcN. Hodnoty odezev jsou uvedené jako medián tří měření opatřený oborem spolehlivosti.

Koncentrace [mol.l ⁻¹]	Odezva detektoru [kHz]
5,0.10 ⁻³	9253,20 ± 152,10
1,0.10 ⁻³	3186,91 ± 40,82
5,0.10 ⁻⁴	1748,55 ± 24,44
1,0.10 ⁻⁴	365,86 ± 1,64
5,0.10 ⁻⁵	153,39 ± 1,31
1,0.10 ⁻⁵	77,26 ± 0,66
8,0.10 ⁻⁶	50,82 ± 5,15
5,0.10 ⁻⁶	24,87 ± 0,62
2,0.10 ⁻⁶	53,65 ± 0,27
1,0.10 ⁻⁶	30,52 ± 0,59
8,0.10 ⁻⁷	12,64 ± 0,46
5,0.10 ⁻⁷	11,31 ± 0,21



Obr. 4.8. Vliv změny rozpouštědla. Závislost odezvy detektoru na molární koncentraci KCl v měřeném roztoku. Symboly: Δ – 5% roztok AcN, \blacksquare – deionizovaná voda.

Tabulka 4.7. Parametry exponenciálních regresních křivek v rozpouštědlech deionizovaná voda a AcN.

Parametry	Rozpouštědlo	
	Deionizovaná voda	AcN
A1	$-6986,22 \pm 65,44$	$-9231,94 \pm 0,15$
y0	$7034,40 \pm 0,00$	$9253,20 \pm 0,00$
t1	$18,40 \cdot 10^{-4} \pm 1,27 \cdot 10^{-4}$	$26,50 \cdot 10^{-4} \pm 0,10 \cdot 10^{-4}$
r^2	0,9943	0,8269

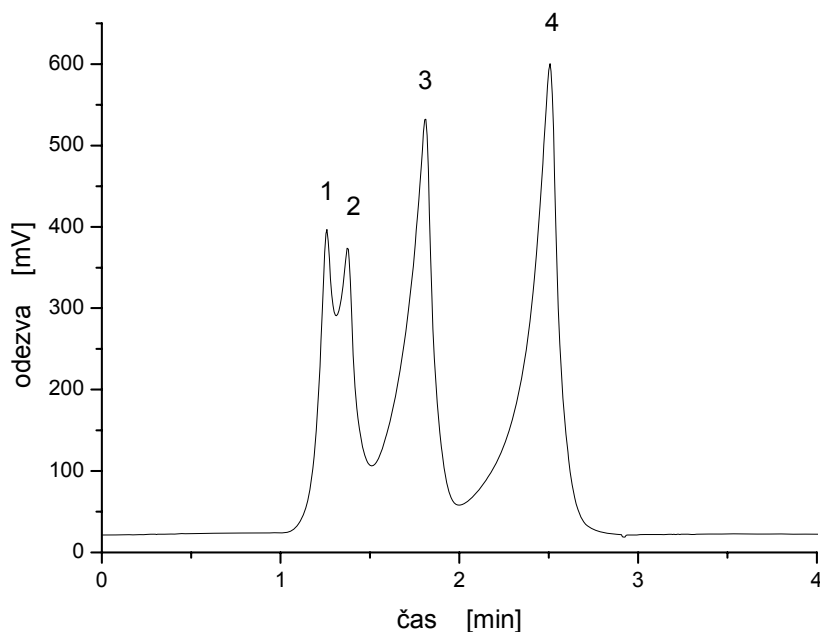
Podobně jako v případě detektoru typu I má změna mobilní fáze vliv na registrovanou odezvu. V tomto případě je však tento rozdíl, především v oblasti nízkých koncentrací, minimální. To může být způsobeno tím, že koncentrace AcN není tak velká, aby měla přítomnost acetonitrilu vliv na odezvu detektoru. 5% AcN byl zvolen z důvodu zamýšleného použití právě této mobilní fáze v následujících experimentech. Dalším vlivem, který způsobuje rozdíly v odezvách mezi typem I a II, je patrně i výše zmíněná porucha detektoru I.

4.2.4 Použití detektoru v HPLC

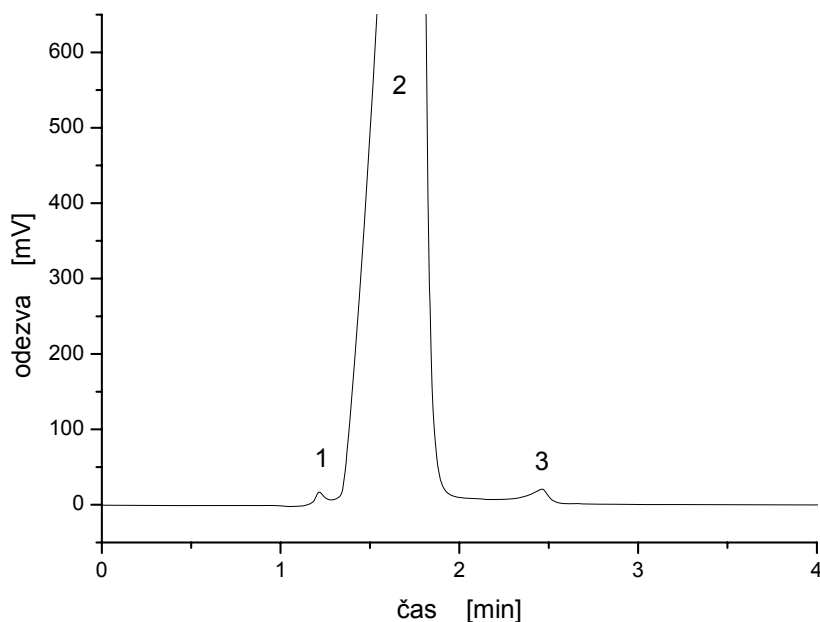
Vysokoúčinná kapalinová chromatografie je jednou z nejrozšířenějších analytických metod vůbec, jako detekční prostředek se u této metody používá široké spektrum detektorů. Avšak zdaleka nejpoužívanějšími jsou spektrofotometrické detektory. Proto je srovnání testovaného thin-layer CCD s UV detektorem dobré a kritické měřítko pro zhodnocení jeho praktického použití. Testován byl detektor typu II.

Jelikož šlo pouze o test detektoru v reálných podmínkách, nebyly přesně hledány optimální separační podmínky. Pouze na základě předběžného testu byl jako mobilní fáze používán 60% roztok AcN v deionizované vodě, tedy koncentrace podstatně vyšší než byla předpokládána při testování vlivu organického rozpouštědla na odezvu, viz výše. Chromatogram testované směsi iontových organických látek získaný testovaným detektorem je na obr. 4.9 a UV detektorem na obr. 4.10. Výhodnost thin-layer CCD proti UV detekci pro tento druh látek je zřejmá.

Jako hodnoty odezvy pro kalibraci byly brány výšky registrovaných píků, tyto hodnoty jsou uvedeny jak pro thin-layer CCD tak i pro UV detektor v tab. 4.8. až tab. 4.11.



Obr. 4.9. Chromatogram získaný thin-layer CCD. Identifikace píků: 1– kyselina oktansulfonová, 2– kyselina mléčná, 3– kyselina benzoová, 4– kapronát sodný. Mobilní fáze– 60%AcN, průtok– 0,8 ml/min, kolona C18 5 μ m, 4,6x150 mm. Nástřik: 10 μ l, koncentrace složek: 0.6 mM kys. oktansulfonová, 1.4 mM kys. mléčná, 4.0 mM kys. benzoová, 10.0 mM kapronát sodný.



Obr. 4.10. Chromatogram získaný UV detektorem. Identifikace píků 1– kyselina oktansulfonová společně s kyselinou mléčnou, 2– kyselina benzoová, 3– kapronát sodný. Experimentální podmínky stejné jako u obr. 4.9.

Z dat v tab. 4.8 až 4.11 byly zpracovány koncentrační kalibrace, jejichž grafické znázornění je na obr. 4.11. a obr. 4.12. Lineárními částmi těchto závislostí byly proloženy regresní přímky. Parametry těchto přímek, společně s detekčními limity pro jednotlivé kyseliny na obou detektorech jsou uvedeny v tab. 4.12. Limity detekce jsou uváděny jako koncentrace dané látky poskytující signál rovný trojnásobku šumu základní linie.

Tabulka 4.8. Odezvy thin-layer CCD a UV detektoru pro oktansulfonovou kyselinu.

Hodnoty odezvy jsou vyjádřeny jako medián tří měření a jsou opatřeny intervalem spolehlivosti.

Koncentrace [mmol/l]	odezva CCD [mV]	odezva UV detektor [mV]
1	626,50 ± 43,91	33,58 ± 19,76
0,5	311,84 ± 33,86	28,81 ± 20,01
0,2	112,83 ± 11,61	18,09 ± 7,34
0,1	52,26 ± 7,17	20,17 ± 3,54
0,08	50,74 ± 9,46	22,91 ± 4,47
0,05	32,76 ± 12,90	17,59 ± 7,67
0,02	23,51 ± 6,10	54,84 ± 43,83
0,01	16,37 ± 5,76	10,77 ± 1,49

Tabulka 4.9. Odezvy CCD a UV detektoru pro kyselinu mléčnou. Hodnoty odezvy jsou vyjádřeny jako medián tří měření a jsou opatřeny intervalem spolehlivosti.

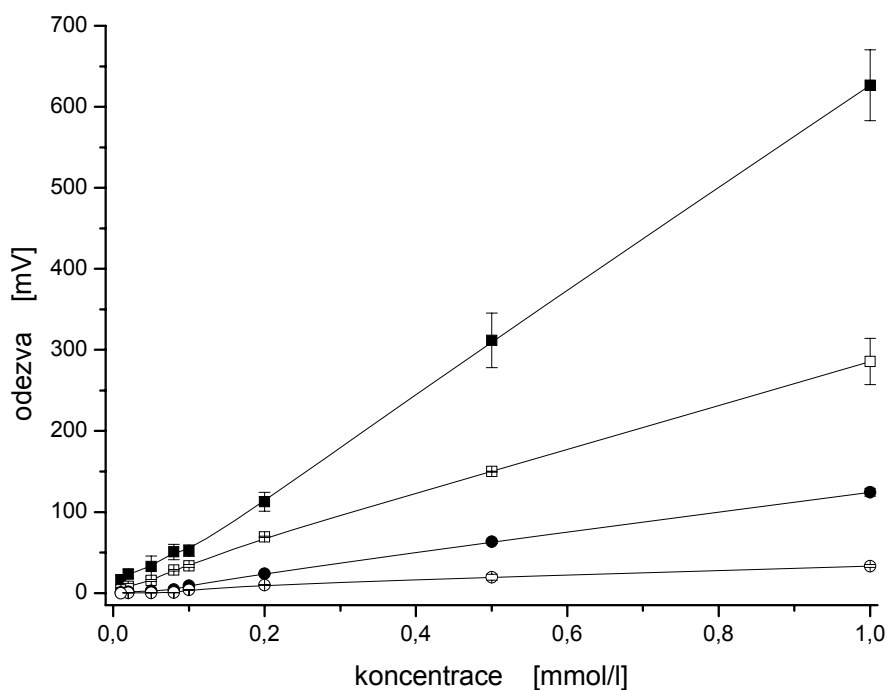
Koncentrace [mmol/l]	odezva CCD [mV]	odezva UV detektor [mV]
1	285,72 ± 28,53	38,86 ± 10,25
0,5	149,81 ± 0,61	26,53 ± 2,59
0,2	69,19 ± 0,77	22,40 ± 2,14
0,1	33,38 ± 1,74	17,56 ± 1,26
0,08	28,15 ± 0,89	18,17 ± 5,19
0,05	15,41 ± 1,15	15,76 ± 2,30
0,02	8,34 ± 3,46	14,87 ± 2,14
0,01	3,85 ± 3,40	14,62 ± 0,91

Tabulka 4.10. Odezvy CCD a UV detektoru pro kyselinu benzoovou. Hodnoty odezvy jsou vyjádřeny jako medián tří měření a jsou opatřeny intervalem spolehlivosti. MR-odezva mimo měřicí rozsah přístroje.

Koncentrace [mmol/l]	odezva CCD [mV]	odezva UV detektor [mV]
1	124,17 ± 4,83	MR
0,5	63,28 ± 1,78	MR
0,2	23,97 ± 0,33	481,09 ± 5,98
0,1	5,28 ± 0,24	290,09 ± 18,41
0,08	4,15 ± 0,41	232,74 ± 11,33
0,05	2,52 ± 0,37	150,09 ± 2,38
0,02	1,44 ± 0,36	88,33 ± 11,43
0,01	0,67 ± 0,09	43,65 ± 1,24

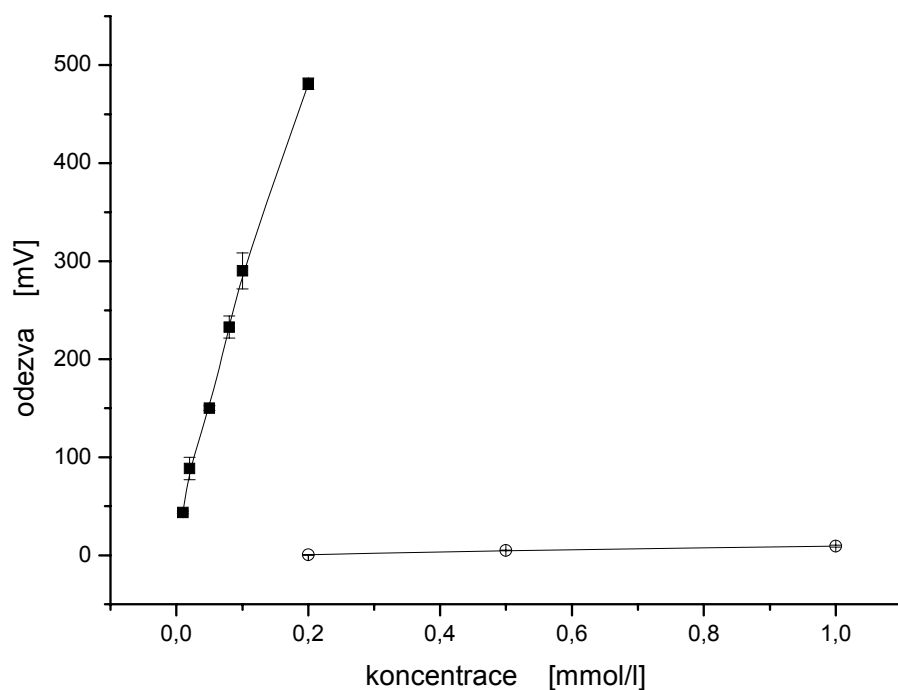
Tabulka 4.11. Odezvy CCD a UV detektoru pro kapronát sodný. Hodnoty odezvy jsou vyjádřeny jako medián tří měření a jsou opatřeny intervalem spolehlivosti.

Koncentrace [mmol/l]	odezva CCD [mV]	odezva UV detektor [mV]
1	33,34 ± 1,66	9,25 ± 1,10
0,5	19,52 ± 3,47	4,92 ± 0,27
0,2	9,89 ± 0,32	0,41 ± 0,25
0,1	0,86 ± 0,08	bez odezvy
0,08	0,51 ± 0,17	bez odezvy
0,05	0,36 ± 0,07	bez odezvy
0,02	0,22 ± 0,11	bez odezvy
0,01	bez odezvy	bez odezvy



Obr. 4.11. Kalibrační závislost pro thin-layer CCD. Symboly:

■ – kys. oktansulfonová, □ – kys. mléčná, ● – kys. benzoová, ○ – kapronát sodný.



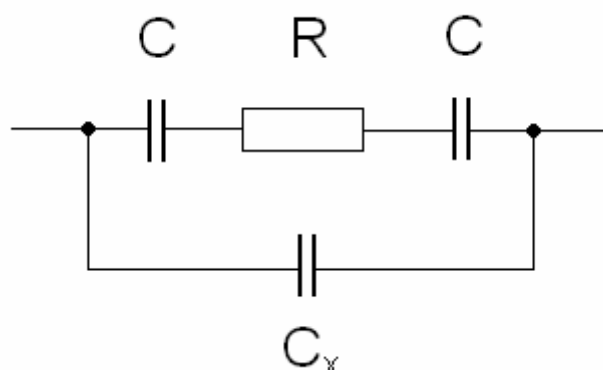
Obr. 4.12. Kalibrační závislost pro UV detektor. Závislost odezvy detektoru na koncentraci složky v nástřiku. Symboly: ■ – kys. benzoová, ⊗ – kapronát sodný.

Tabulka 4.12. Parametry regresních kalibračních přímek. Parametry jsou uvedeny jak pro thin-layer CCD, tak i pro UV detektor.

Detektor	Analyt	Směrnice [mV.dm ³ /mmol]	Úsek [mV]	R ²	LOD [μmol/l]
CCD	kys. oktansulfonová	622,3	0,0	0,9993	1,45
CCD	kys. mléčná	284,6	4,6	0,9992	3,16
CCD	kys. benzoová	127,6	-2,6	0,9990	7,05
CCD	kapronát sodný	32,7	0,0	0,9889	16,67
UV	kys. benzoová	2277,4	39,7	0,9974	0,03
UV	kapronát sodný	10,8	0,0	0,9881	20,35

4.3 Matematická modelace vlastností detektoru typu II

Ačkoliv je testovaná bezkontaktní vodivostní cela svou konstrukcí úplná novinka, stále se její chování musí řídit fyzikálními zákony. Na tuto celu lze nahlížet jako na klasickou vodivostní celu a lze ji alespoň částečně popsat náhradním elektrickým obvodem, viz obr. 4.13.



Obr. 4.13. Náhradní elektrický obvod bezkontaktní detekční cely. Popisky uvedeny dále v textu.

Jak bylo výše popsáno, cela obsahuje dvojici hliníkových vodivostních elektrod, jejichž elektrický odpor lze v porovnání s odporem testovaného roztoku zanedbat. Co však nelze zanedbat je kapacita na rozhraní elektroda/roztok. Elektrody se chovají jako planární kondenzátor, jehož kapacitu C , lze vyjádřit vztahem

$$C = \frac{\varepsilon_r \cdot \varepsilon \cdot A}{tl}, \quad (4.2)$$

kde ε_r je relativní permitivita mylaru, ε permitivita vakua, A plocha elektrod a tl je tloušťka mylaru.

Dalším prvkem v náhradním obvodu cely nutně musí být elektrický odpor R , simulující skutečný odpor, který průchodu elektrického proudu klade testovaný roztok. Tento elektrický odpor lze jednoduše, na základě znalosti měrné vodivosti roztoku uvnitř cely, spočítat pouhým dosazením do rovnice

$$R = \frac{1}{\kappa} \cdot \frac{d}{a}, \quad (4.3)$$

kde κ je měrná vodivost testovaného roztoku, d účinná vzdálenost elektrod a a je

plocha. Hodnota a vyjadřuje plochu, kterou teče proud mezi elektrodami, což je v podstatě průřez detekčního kanálku. Hodnota této plochy činí $2,4 \cdot 10^{-7} \text{ m}^2$. Hodnota d , účinná vzdálenost elektrod, vyjadřuje po jaké dráze teče proud mezi elektrodami. Jak je z práce ¹² patrné, proud může téci i po vnějším povrchu detekčního kanálku, tj. mimo roztok. Tuto vlastnost postihuje veličina C_x , parazitní kapacita, jejíž hodnotu nelze zanedbat a musí s ní být v modelaci cely počítáno.

Impedanci Z_1 , sériového zapojení dvou kondenzátorů o kapacitách C a jednoho rezistoru o odporu R , lze vypočítat dle vztahu

$$Z_1 = R - \frac{2i}{\omega(f).C} , \quad (4.4)$$

kde i je imaginární jednotka a $\omega(f)$ úhlová rychlost, vyjadřující závislost impedance na frekvenci procházejícího proudu. K výpočtu impedance Z , náhradního obvodu je třeba uvážit i přítomnost parazitní impedance Z_x , jejíž hodnotu lze vypočítat dle rovnice

$$Z_x = \frac{-i}{\omega(f).C_x} . \quad (4.5)$$

Výsledným vztahem pro výpočet impedance celého náhradního obvodu, je

$$Z = \frac{Z_1.Z_x}{Z_1 + Z_x} . \quad (4.6)$$

Odezva detektoru je úměrná rozdílu vodivostí testovaného roztoku a mobilní fáze. Tento rozdíl zastupuje veličina G . Z tohoto vyplývá, že odezva je úměrná rozdílu reciprokových impedancí cel v přítomnosti vody a testovaného roztoku, což vyjadřuje následující vztah

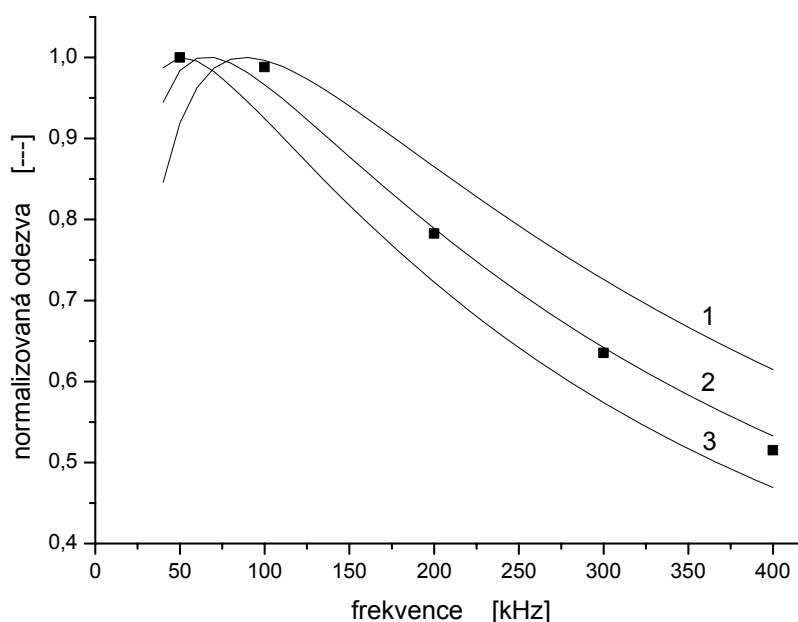
$$G = \frac{1}{Z_R} - \frac{1}{Z_0} , \quad (4.7)$$

kde Z_R je impedance cely s testovaným roztokem a Z_0 je impedance cely s deionizovanou vodou. Jelikož ale není přesně známa funkce určující vztah mezi rozdílem vodivostí G a odpovídající odezvou detektoru, je nutné vypočítané hodnoty vodivostí normalizovat, stejně tak jako naměřené hodnoty odezev. Teprve touto úpravou je možné získat hodnoty vzájemně porovnatelné a tak posoudit nakolik se matematická modelace blíží skutečně naměřeným hodnotám.

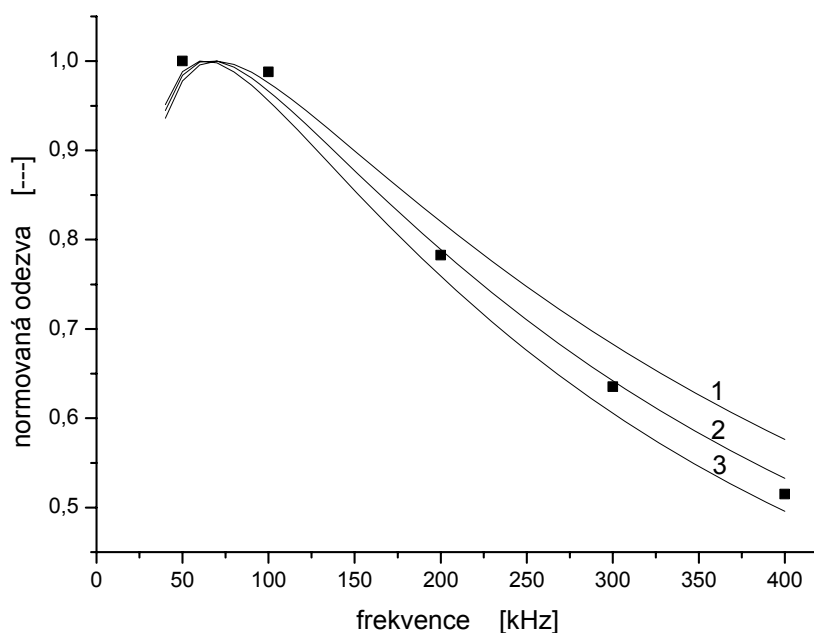
V souladu s předchozími experimenty byly modelovány dvě situace. Tou první

je změna odezvy detektoru v závislosti na použité frekvenci procházejícího proudu. Při tomto postupu pomyslně zůstává v cele jen jeden roztok o známé měrné vodivosti. Druhou možností je pak změna odezvy se změnou měrné vodivosti testovaného roztoku při jedné frekvenci. Během obou simulací je možno měnit 2 parametry, které ovlivňují výslednou odezvu. Těmito parametry jsou: účinná vzdálenost elektrod, d , a parazitní kapacita, C_x . Hodnoty těchto veličin nejsou přesně známé, existuje tedy určitý interval, v němž se mohou měnit. Jejich změnami a vzájemnou kombinací tak vzniká velké množství možných modelových průběhů, které se více či méně blíží skutečnosti a není reálné je zde všechny uvádět. Pouze ilustrativně byly vybrány tři různé parametry d , jejichž hodnota se blíží skutečné hodnotě. Na obr. 4.14. je pak zobrazen vliv tohoto parametru na průběh odezvy detektoru, přičemž hodnota parazitní kapacity zůstává konstantní.

Z obr. 4.14 je zřejmé, že i malá změna účinné vzdálenosti vykazuje velký vliv na odezvu detektoru. Obrázek 4.15. naopak ukazuje vliv změny parazitní kapacity na průběh odezvy, hodnota d zůstává konstantní. Z těchto obrázků lze usoudit, že především u nižších frekvencí má změna parametru d významnější vliv na změnu odezvy než změna C_x .



Obr. 4.14. Modelace frekvenční závislosti s různým parametrem d při konstantní hodnotě $C_x = 5,3 \cdot 10^{-14} \text{ F}$. Body – experimentální hodnoty pro roztok KCl o vodivosti $1,54 \cdot 10^{-3} \text{ S m}^{-1}$. Křivky: 1, $d = 2,6 \cdot 10^{-3} \text{ m}$; 2, $d = 3,0 \cdot 10^{-3} \text{ m}$, 3, $d = 3,4 \cdot 10^{-3} \text{ m}$.



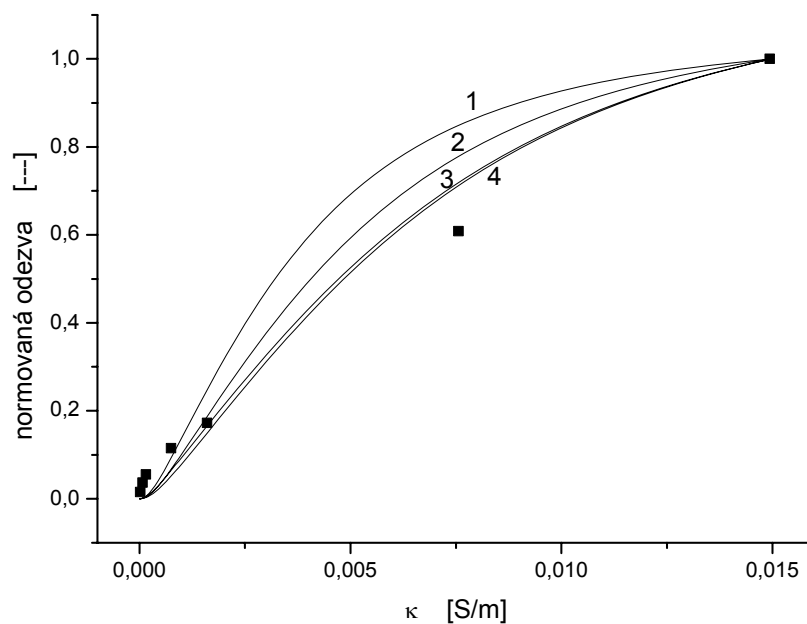
Obr. 4.15. Modelace frekvenční závislosti s různým parametrem C_x při konstantní hodnotě $d = 3,0 \cdot 10^{-3} \text{ m}$. Body – experimentální hodnoty pro roztok KCl o vodivosti $1,54 \cdot 10^{-3} \text{ Sm}^{-1}$. Křivky: 1, $C_x = 4,5 \cdot 10^{-14} \text{ F}$; 2, $C_x = 5,3 \cdot 10^{-14} \text{ F}$; 3, $C_x = 6,1 \cdot 10^{-14} \text{ F}$.

Křivka 2 na obr. 4.14 a 4.15 představuje nejtěsnější shodu mezi modelovým výpočtem a experimentem; parametry pro výpočet této křivky jsou přehledně uspořádány v tab. 4.13.

Druhou možností, jež je možno modelovat, je závislost odezvy detektoru na vodivosti testovaného roztoku. Během tohoto experimentu je stále využíván popis celý náhradním elektrickým obvodem a všechny výše uvedené vztahy zůstávají v platnosti. Jediným rozdílem oproti předchozímu modelování je konstantnost frekvence vstupního signálu. Opět změna parametrů d a C_x vede ke změně průběhu modelované závislosti. Několik modelových průběhů, které nejlépe vystihují skutečně naměřené hodnoty je uvedeno na obr. 4.16. Shodně jako v předchozí modelaci má parametr d větší vliv na průběh závislosti, nežli parametr C_x .

Tabulka 4.13. Souhrn parametrů modelace, pro něž byla nalezena nejlepší shoda mezi modelem a experimentem pro roztok o vodivosti $1,54 \times 10^{-3} \text{ S m}^{-1}$ ($1 \times 10^{-4} \text{ M KCl}$).

Parametr	Hodnota
d , účinná vzdálenost elektrod	$3,0 \cdot 10^{-3} \text{ m}$
C_x , parazitní kapacita	$5,3 \cdot 10^{-14} \text{ F}$
w , geometrická šířka elektrod	$1,0 \cdot 10^{-3} \text{ m}$
a , průřez kanálku	$2,4 \cdot 10^{-7} \text{ m}^2$
A , plocha elektrod	$1,0 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2$
tl , tloušťka Mylaru	$2,0 \cdot 10^{-5} \text{ m}$
ε_r , relativní permitivita Mylaru	3,2
ε , permitivita vakua	$8,85 \cdot 10^{-12} \text{ Fm}^{-1}$



Obr. 4.16. Modelace vodivostní závislosti s různými parametry d a C_x . Parametry pro jednotlivé křivky: křivka 1 ($d = 3,0 \cdot 10^{-3} \text{ m}$; $C_x = 5,3 \cdot 10^{-14} \text{ F}$), 2 ($d = 3,6 \cdot 10^{-3} \text{ m}$; $C_x = 5,3 \cdot 10^{-14} \text{ F}$), 3 ($d = 4,2 \cdot 10^{-3} \text{ m}$; $C_x = 5,3 \cdot 10^{-14} \text{ F}$), 4 ($d = 4,2 \cdot 10^{-3} \text{ m}$; $C_x = 3,0 \cdot 10^{-14} \text{ F}$). Body odpovídají experimentálně změřeným hodnotám pro frekvenci 100 kHz.

Z obr. 4.16 je dále patrné, že modelace přesně nevystihuje naměřenou skutečnost, tak jak tomu bylo v předchozím případě. Z tohoto důvodu je velmi složité rozhodnout, která modelace se blíží skutečnosti. Avšak na základě předchozích frekvenčních modelací a této modelace lze usoudit, že dříve zjištěné hodnoty, uvedené v tab.4.13. lze považovat za správné. Z těchto dat je vypočítaná křivka 1 na obr. 4.16. Tudíž lze říci, že náhradní elektrický obvod popisuje testovanou celou uspokojivým způsobem a vytvořený matematický model je vhodný pro popis chování cely.

5 Závěr

V souladu s plánovaným cílem práce byla vyvinuta thin-layer CCD, tj. bezkontaktní impedanční cela zcela nové konstrukce. Tato cela byla otestována v modelovém průtokovém systému, kde se osvědčila. Na základě provedených měření byly pro celou určeny základní analytické parametry. Používáním první verze této cely (typ I) však došlo k jejímu nenávratnému znehodnocení. Životnost, zvláště v prostředí organických rozpouštědel, se tedy stala limitujícím faktorem této cely.

Na základě zkušeností získaných během tohoto měření byla, s použitím snadno dostupných materiálů, sestavena nová cela, typ II, kompenzující nedostatky předchozího modelu. Takto vytvořená cela vykazovala v modelovém průtokovém systému lepší vlastnosti. Po ověření cely v modelovém systému byla tato cela otestována i v reálném systému. Během testů cela vykazovala velmi dobré výsledky a dobrou životnost, čímž předčila předchozí model.

Za velkou výhodou tohoto detektoru lze také považovat propracovaný matematický model, jenž poměrně přesně popisuje chování cely. Avšak tento model není použitelný v celé šíři měřitelných vodivostí. Především v oblasti nízkých hodnot dochází k jevům, jenž nelze jednoduchým způsobem vysvětlit. Tudíž i přes všechny vědomosti získané o tomto detektoru, nelze stále říci, že vlastnosti detektoru jsou dobře známy. Nicméně, na základě provedených měření lze říci, že testovaný detektor je vhodný pro použití v kapalinové chromatografii. V té může za jistých okolností nahradit často používané spektrofotometrické detektory, či sloužit jako doplňující zdroj informací, na jejichž kvalitu se lze spolehnout.

6 Citovaná literatura

1. David Heiger: High performance capillary electrophoresis, Agilent Technologies 2000
2. Foret F., Křivánková L., Boček P.: Capillary Electrophoresis, VCH Weinheim (1993)
3. V. Dolník: Úvod do kapilární elektroforézy, ÚAV Brno, Chromspec (1994)
4. Tanyanyiwa J., Leuthardt S., Hauser P.C.: Electrophoresis 3659, 23 (2002)
5. Zemann A.J.: Trends in Analytical Chemistry 346, 20 (2001)
6. Štulík K., Pacáková V.: Elektroanalytická měření v proudících kapalinách, SNTL 1989
7. Metodický pokyn odboru ochrany vod MŽP k nařízení vlády č. 61/2003 Sb. Část 1: Elektrometrická metoda pro pitné a málo znečištěné vody.
8. Barek J., Opekar F., Štulík K.: Elektroanalytická chemie; Učební texty Univerzity Karlovy v Praze, ISBN 80-246-1146-5
9. Gaš B., Damjanenko M., Vacík J.: J. Chromatogr. 253, 192 (1980)
10. Gaš B., Vacík J.: Chem. listy 652, 79 (1980)
11. Zemann A.J., Schnell E., Volger D., Bonn G.K.: Anal. Chem. 563, 70 (1998)
12. da Silva J.A.F., do Lago C.L.: Anal. Chem. 4339, 70 (1998)
13. Chvojka T., Jelínek I., Opekar F., Štulík K.: Anal. Chim. Acta 13, 433 (2001)
14. Tůma P., Opekar F., Jelínek I., Štulík K.: Electroanalysis 989, 13 (2001)
15. Pumera M., Wang J., Opekar F., Jelínek I., Feldman J., Lowe H.: Anal. Chem. 1968, 74 (2002)
16. Kaniansky D., Masár M., Bodor R., Žúborová M., Ölvecká E., Jöhnck M., Stanislawski B.: Electrophoresis 2208, 24 (2003)
17. Graß B., Siepe D., Neied A., Hergenröder R., Fresenius J. Anal. Chem. 288, 371 (2001)
18. Wang J., Pumera M., Chatrathi M. P., Escarpa A., Konrad R., Griebel A., Dörner W., Löwe H.: Electrophoresis 596, 23 (2002)
19. Hoherčáková Z.: Nové bezkontaktní vodivostní cely s drátkovými elektrodami pro detekci v průtokové analýze (Disertační práce, Universita Karlova v Praze)
20. da Silva J.A.F., do Lago C.L.: Electrophoresis 1405, 21 (2000)

21. Hoherčáková Z., Opekar F.: Anal. Chim. Acta, 551, 132 (2005)
22. Pumera M., Jelínek I., Jindřich J.: Fresenius J. Anal. Chem. 666, 369 (2001)
23. Coufal P., Zuska J., Van de Goor T., Smith V., Gaš B.: Electrophoresis 671, 24 (2003)
24. Tanyanyiwa J., Schweizer K., Hauser P.C.: Electrophoresis 2119, 24 (2003)
25. Calvalho A.Z., Fracassi da Silva J.A., do Lago C.L.: Electrophoresis 2138, 24 (2003)
26. Hamplová A., Coufal P., Bosáková Z., Opekar F., Kubiček V.: Chem. Listy 102, 194 (2008)
27. <http://web.mst.edu/~gbert/conductivity/cond.html>